

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**



**MATRIZ POLIMÉRICA ELABORADA POR ELECTROHILADO  
A BASE DE POLIVINILPIRROLIDONA/GELATINA  
Y SU APLICACIÓN BIOMÉDICA**

Por

**HÉCTOR DANIEL LÓPEZ CALDERÓN**

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE  
DOCTOR EN CIENCIAS CON ORIENTACIÓN EN BIOTECNOLOGÍA**

**D i c i e m b r e , 2 0 2 0**

**MATRIZ POLIMÉRICA ELABORADA POR ELECTROHILADO**

**A BASE DE POLIVINILPIRROLIDONA/GELATINA**

**Y SU APLICACIÓN BIOMÉDICA**

**Comité de Tesis**



---

Dra. Katiushka Arévalo Niño

Presidente



---

Dr. Hamlet Avilés Arnaut

Secretario



---

Dra. Diana Ginette Zarate Triviño

Vocal



---

Dra. Verónica Almaguer Cantú

Vocal



---

Dr. Luis J. Galán Wong

Vocal

**MATRIZ POLIMÉRICA ELABORADA POR ELECTROHILADO**

**A BASE DE POLIVINILPIRROLIDONA/GELATINA**

**Y SU APLICACIÓN BIOMÉDICA**



---

Dra. Katiushka Arévalo Niño

Director



---

Dra. Liliana Licea Jiménez

Asesor Externo

## **AGRADECIMIENTOS**

El presente trabajo se realizó gracias al apoyo del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca 445894 otorgada , sin la cual no hubiese sido posible el finalizar este programa de posgrado.

Mil gracias a todas las personas quienes durante estos años han estado para apoyarme en los momentos de dudas y disfrutando los momentos de logros.

Primeramente, a la Dra. Katiushka Arévalo Niño, mi más enorme agradecimiento por haberme permitido realizar este trabajo. Muchas gracias por su paciencia ante mi inconsistencia, por su valiosa dirección y por su apoyo para poder realizar este trabajo.

De la misma forma a Eugenia, Ernesto y aquellos con los que no sólo compartí espacios y horas de trabajo, sino también ideas y dudas, gracias su ayuda en la realización y mejora de este trabajo y por el espíritu de grupo.

Gracias a mi familia, que siempre me ha apoyado en las decisiones y caminos que he elegido, sobre todo a mi hermosa madre, quien ha sido, es y será siempre mi modelo que seguir, quien me ha ayudado tanto para poder crecer y a quien jamás he de poder pagar todo lo que me ha dado, por su apoyo y guía en diversos aspectos que me han permitido llegar a este punto en mi vida. Gracias a ellos que me ayudaron a alcanzar esta meta.

Finalmente quiero agradecer a quien me ha aguantado durante estos años, en mis buenos y malos momentos, por estar ahí para escucharme y compartir frustraciones y alegrías. Siempre ha estado ahí en lo bueno y en lo malo, siempre para brindarme ánimos y la confianza para seguir trabajando. Te amo Sofía.

## **DEDICATORIAS**

A mi abuelita, que siempre está acompañándome.

# ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	4
2. 1 Heridas por Quemadura	4
2.2 Electrohilado	5
2.2.1 Parámetros del proceso	8
2.2.2 Áreas de aplicación del electrohilado	12
2.2.3 Aplicaciones en ingeniería de tejidos	14
2.3 Polímeros	15
3. JUSTIFICACIÓN	18
4. HIPÓTESIS	19
5. OBJETIVO DEL TRABAJO	20
5.1 Objetivos particulares:	20
6. MATERIAL Y MÉTODOS	21
6.1 Elaboración de las soluciones poliméricas	21
6.1.1 Solubilidad	23
6.1.2 Miscibilidad	23
6.1.3 pH	24
6.1.4 Conductividad	24
6.2 Proceso de electrohilado	24
6.2.1 Parámetros del proceso de electrohilado	24
6.3 Caracterización del material	25
6.3.1 Microscopía Óptica	25
6.3.2 Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)	26
6.3.3 Adición de la gentamicina	27
6.3.4 Espectroscopía Infrarroja por la Transformada de Fourier (FTIR)	27
6.3.5 Humectabilidad	28
6.3.6 Análisis Térmico	28
6.4 Actividad antibacteriana	29

6.5	Análisis Estadístico	30
7.	RESULTADOS	32
7.1	Elaboración de las soluciones poliméricas	32
7.1.1	Solubilidad	32
7.1.2	Miscibilidad	33
7.1.3	pH	34
7.1.4	Conductividad	35
7.2	Proceso de electrohilado	37
7.2.1	Parámetros del proceso de electrohilado	37
7.3	Caracterización del Material	50
7.3.1	Microscopía óptica	50
7.3.2	SEM	52
7.3.3	Adición de la gentamicina	55
7.3.4	ATR-FTIR	58
7.3.5	Humectabilidad	59
7.3.6	Análisis Térmico	61
7.4	Actividad Biológica	63
8.	DISCUSIÓN	65
9.	CONCLUSIONES	72
10.	PERSPECTIVAS	73
10.1	Pruebas de liberación del principio activo	73
10.2	Pruebas en líneas celulares	73
11.	BIBLIOGRAFÍA	74
12.	RESUMEN BIOGRÁFICO	84

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	Resumen general de los parámetros y sus aportaciones en las características de las fibras obtenidas mediante el proceso de electrohilado.	11
Tabla 2	Ejemplos de los parámetros involucrados en la obtención de diferentes morfologías en las fibras de electrohilado y aplicaciones en que se han implementado.	13
Tabla 3	Parámetros evaluados para el procesamiento de las soluciones poliméricas mediante electrohilado.	23
Tabla 4	Evaluación de formación de cono de Taylor con la solución 8P1G4 combinando flujo de alimentación y voltaje aplicado.	37
Tabla 5	Evaluación de formación de cono de Taylor con la solución 12P1G4 combinando flujo de alimentación y voltaje aplicado.	38
Tabla 6	Evaluación de formación de cono de Taylor con la solución 16P1G4 combinando flujo de alimentación y voltaje aplicado.	39
Tabla 7	Evaluación de formación de cono de Taylor con la solución 8AC combinando flujo de alimentación y voltaje aplicado.	40
Tabla 8	Evaluación de formación de cono de Taylor con la solución 12AC combinando flujo de alimentación y voltaje aplicado.	41
Tabla 9	Evaluación de formación de cono de Taylor con la solución 16AC combinando flujo de alimentación y voltaje aplicado.	42
Tabla 10	Deposición de solución 8P1G4 en colector a diferentes distancias del inyector en combinación con los flujos y voltajes antes evaluados.	43
Tabla 11	Deposición de solución 12P1G4 en colector a diferentes distancias del inyector en combinación con los flujos y voltajes antes evaluados.	44
Tabla 12	Deposición de solución 16P1G4 en colector a diferentes distancias del inyector en combinación con los flujos y voltajes antes evaluados.	45



Tabla 13	Deposición de solución 8AC en colector a diferentes distancias del inyector en combinación con los flujos y voltajes antes evaluados.	46
Tabla 14	Deposición de solución 12AC en colector a diferentes distancias del inyector en combinación con los flujos y voltajes antes evaluados.	47
Tabla 15	Deposición de solución 16AC en colector a diferentes distancias del inyector en combinación con los flujos y voltajes antes evaluados.	48
Tabla 16	Tamaño promedio de fibras y poros	54
Tabla 17	Diámetros promedio de fibras y poros que constituyen el andamio.	57
Tabla 18	Posición de las señales detectadas mediante FT-IR presentes en el andamio bicapa y la fuente de origen de cada una de esas señales.	58
Tabla 19	Actividad antibacteriana obtenida en las pruebas de Kirby-Bauer	62

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Principales componentes del proceso de electrohilado.	6
Figura 2	Variaciones en el ensamble de los componentes del sistema de electrohilado.	7
Figura 3	Solución de Acetato de Celulosa (AC) al 12% (p/v) empleando ácido acético glacial como solvente.	31
Figura 4	Solución de polivinil pirrolidona y gelatina (PVP:GEL) en proporción 3:2 con una concentración polimérica total de 8% (p/v) completamente homogenizada.	32
Figura 5	Valores de pH de las soluciones de PVP:GEL.	33
Figura 6	Valores de conductividad de las soluciones de PVP:GEL.	34
Figura 7	Micrografía del material depositado en el colector de la solución de 8AC con un voltaje de 12 kV, un flujo de 1.5 ml/h, a 10 cm de distancia entre el inyector y el colector. Se observa la presencia de solvente que no fue evaporado durante el proceso.	49
Figura 8	Presencia de perlas ( ) en las fibras al procesar la solución de 12P1G4 con un voltaje de 30 kV, un flujo de 0.4 ml/h, a 25 cm de distancia entre el inyector y el colector.	50
Figura 9	Fibras poliméricas obtenidas mediante el procesamiento de la solución 16P1G4 con un voltaje de 20 kV, a 0.2 ml/h de flujo de alimentación y 20 cm de distancia entre inyector y colector.	51
Figura 10	SEM de las fibras obtenidas mediante el proceso de electrohilado de la solución PG.	52
Figura 11	Frecuencia del diámetro de las fibras y poros presentes en la matriz de PG.	52
Figura 12	SEM de las fibras obtenidas mediante el proceso de electrohilado de la solución AC.	53
Figura 13	Frecuencia del diámetro de las fibras y poros presentes en la matriz de AC.	53

Figura 14	SEM de las fibras que conforman la primera capa a base de la solución PG+gen.	55
Figura 15	Frecuencia de diámetros obtenidos al medir las estructuras presentes en la matriz de PG.	55
Figura 16	SEM de las fibras formadoras de la segunda capa del andamio a partir de la solución AC.	56
Figura 17	Frecuencia de diámetros obtenidos al medir las estructuras presentes en la matriz de PG.	56
Figura 18	Espectro de FTIR que muestra las señales de a) PVP, b) GEL, c) AC, d) gen y e) Andamio bicapa.	57
Figura 19	Determinación de las características de humectabilidad de las capas del andamio polimérico mediante la determinación del ángulo de contacto de a) PG+gen y b) AC.	59
Figura 20	SEM que muestra la morfología de las fibras formadoras de la capa de AC del andamio a) antes de la prueba de ángulo de contacto y b) después de su humectación con buffer de acetatos pH 5.5.	60
Figura 21	Termograma del andamio. indica la pérdida del primer 20% de la masa de la muestra (Td20%), y muestra la temperatura para la pérdida de la mitad (Td50%).	61
Figura 22	. DSC del andamio que muestra el comportamiento térmico durante un solo calentamiento con aumento de 10 °C/min en atmósfera de nitrógeno.	61
Figura 23	Halos de inhibición del crecimiento en cultivos bacterianos a) control negativo usando andamio bicapa sin gentamicina, b) tratamiento con andamio polimérico adicionado con gentamicina, c) control negativo de disco de papel filtro con gentamicina.	63

## RESUMEN

Utilizando la técnica de electrohilado, se procesó un andamio polimérico compuesto de dos capas, una capa de gelatina y polivinil pirrolidona con gentamicina, y una segunda capa de acetato de celulosa. Las condiciones del proceso de electrohilado se estandarizaron para los parámetros de potencial eléctrico aplicado, flujo de alimentación y distancia entre el inyector y el colector. Una vez optimizados los valores de las principales variables del proceso, se estableció un tiempo de proceso de tres horas para permitir la separación del material del colector. El material obtenido se caracterizó por observaciones en microscopía electrónica de barrido, espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier, medición del ángulo de contacto para evaluar las propiedades de humectabilidad y actividad antibacteriana contra *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*. Las fibras obtenidas que forman el andamio bicapa presentan diámetros de alrededor de 100 y 300 nm de las capas anterior y posterior respectivamente. El andamiaje presenta la composición química, las características de humectabilidad y la actividad antibacteriana que cumplen con la propuesta de este trabajo, basada en la obtención de un material que pueda ser utilizado como vehículo para la administración de medicamentos y como material para el apósito de heridas.

## SUMMARY

Using the electrospinning technique, a polymeric scaffold composed of two layers was processed, a gelatin and polyvinylpyrrolidone layer with gentamicin, and a cellulose acetate second layer. The conditions for the electrospinning process were standardized for voltage parameters, feed flow and the distance from the injector to the collector. Once the values of the main variables for the electrospinning were optimized, a three-hours processing time was established to allow the separation of the material from the collector. The obtained material was characterized by observations on scanning electron microscopy, Fourier transform infrared spectroscopy, contact angle measurement to evaluate wettability properties and antibacterial activity against *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* were evaluated. The obtained fibers that form the bi-layer scaffold present diameters about 100 and 300 nm from the former and later layers respectively. The scaffold presents chemical composition, wettability characteristics, and

antibacterial activity that fulfill the proposal from this work, based on obtaining a material that could be used as a drug delivery vehicle and a wound dressing material.

## 1. INTRODUCCIÓN

La atención médica del paciente quemado tiene un alto costo por los gastos prehospituarios y hospitalarios, estimando que los costos por paciente varían desde los 30 mil pesos, en casos de severidad leve sin disfunción orgánica, hasta el rango de varios millones, en casos severos. En la mayor parte de las ocasiones el gobierno de ciertos países, es el que cubre total o parcialmente los gastos de la atención médica a través de instituciones de salud pública ya que dichos montos no pueden ser solventados en forma exclusiva por los pacientes y sus familias (Atiyeh et al., 2014; Moctezuma-Paz et al., 2015).

En este tipo de pacientes es de vital importancia la regeneración de los tejidos dañados, para lo cual el desarrollo de andamios que permitan esta regeneración con plena recuperación de sus funciones fisiológicas ha sido uno de los principales objetivos de la ingeniería de tejidos. Dentro de las tecnologías para la creación de estos andamios el electrohilado ha tomado gran importancia como lo indican las publicaciones científicas que han postrado un incremento en los últimos años (Aldana and Abraham, 2017).

El desarrollo de andamios ideales para la regeneración de los tejidos dañados con plena recuperación de sus funciones biológicas ha sido durante mucho tiempo un objetivo importante en la ingeniería de tejidos y actualmente uno de los procesos que han tomado gran importancia como propuesta para la elaboración de tales andamios es el electrohilado. El proceso funciona por el principio electrostático y aunque aparenta ser simple, una gran cantidad de parámetros de diferente naturaleza tienen influencia en el resultado del proceso de electrohilado (Wendorff et al., 2012). Entre los avances importantes de la técnica de electrohilado está la producción de fibras de sólo algunos nanómetros y micrómetros de diámetro, áreas de gran porosidad que pueden imitar la estructura de la matriz extracelular en términos de dimensiones y propiedades químicas (Agarwal et al., 2009) lo que brinda propiedades fisicoquímicas y mecánicas particulares que pueden controlarse y aprovecharse para diversas aplicaciones en el área médica y farmacéutica, entre otras.

El proceso de electrohilado es un método atractivo para la elaboración de diversos biomateriales, particularmente en forma de matrices debido a las propiedades mecánicas superiores, así como la posibilidad de activación de estas últimas con diversas moléculas, esto aunado a la relativa facilidad de control del proceso una vez que se han establecido las condiciones óptimas del mismo. Las características estructurales, así como fisicoquímicas de las matrices obtenidas por electrohilado permiten obtener propiedades como una excelente permeabilidad al oxígeno, mantenimiento de un ambiente húmedo, un tamaño de poro que impide la penetración bacteriana generando una barrera de protección ante microorganismos del ambiente, entre otras. Una ventaja particular de estos sistemas puede ser la posibilidad de liberación uniforme de agentes bioactivos en los sitios de las heridas (Wendorff et al., 2012).

Una de las consideraciones clave del proceso es la elección del material, lo cual depende de la aplicación que se esté buscando. Para propósitos relacionados con la biotecnología médica, son preferidos los polímeros biocompatibles y biodegradables. La elección está comúnmente basada en las propiedades del tejido cercano al cual se expondrá el polímero (Duque-Sánchez et al., 2014). La polivinil pirrolidona (PVP), también llamado comúnmente polividona o povidona, es un polímero soluble en agua que se obtiene a partir del monómero N-vinilpirrolidona. Es soluble en agua y en solventes polares y ha sido utilizado en aplicaciones médicas y técnicas (Knappe et al., 2010). Por otra parte, la gelatina (GEL) es biodegradable, biocompatible y muestra muchos sitios de unión de la integrina para la adhesión celular y la diferenciación. Por estas razones la gelatina es ampliamente utilizado en los campos farmacéuticos y médicos en una variedad de aplicaciones, incluyendo la ingeniería de tejidos, apósitos para heridas, administración de fármacos y terapia génica (Klimek and Ginalska, 2020a; Panzavolta et al., 2011). El acetato de celulosa (AC) es uno de los derivados de la celulosa más importantes (Khalili et al., 2016). En las últimas décadas se ha prestado gran atención a las fibras de celulosa y sus derivados debido a su bajo coste, ligereza, fácil procesamiento, biodegradabilidad, buenas propiedades mecánicas y de barrera y reciclaje (Tsekova et al., 2017), demuestra un gran potencial como material médico y aplicaciones de ingeniería tisular como fibra funcional y compuesto reforzado (Park et al., 2020). Por otro lado, la gentamicina (GEN) es un aminoglucósido comúnmente utilizado en el tratamiento y la profilaxis de las

infecciones bacterianas. Al igual que otros aminoglucósidos, tiene una vida media relativamente corta, una baja biodisponibilidad y puede causar efectos secundarios como la ototoxicidad y la nefrotoxicidad (Gutiérrez et al., 2018; Mosselhy et al., 2016).

Tomando en cuenta las propiedades físico-químicas de los materiales antes mencionados, se seleccionaron en el presente trabajo para desarrollar un sistema bicapa por electrohilado con potencial uso como apósito en heridas de distinta naturaleza, entre las cuales se pueden considerar aquellas ocasionadas por quemaduras.



## **2. ANTECEDENTES**

### **2. 1 Heridas por Quemadura**

En el año 2010 se reportaron 52.8 millones de muertes, de las cuales 5.1 millones fueron debidas a lesiones, de este número el 2.2% se presentaron en menores de un año y 12.3% se presentaron en niños de 1 a 19 años. Las 4 principales causas de muerte por lesiones fueron: los accidentes de tráfico con 33%, el ahogamiento con 22%, las quemaduras con 14% y las caídas con 8%. Dicho estudio también hace mención que las lesiones produjeron 84% de las muertes de personas de países de ingresos económicos bajos y medio bajos, mientras que sólo produjeron 6% de las muertes de personas de países de ingresos económicos altos (Alonge and Hyder, 2014).

Las quemaduras son lesiones que se definen como daños físicos o traumatismos causados por la transferencia aguda de energía, entre las causas de tal energía podemos enlistar fuentes: mecánicas, térmicas, eléctricas, químicas, de radiación, entre otras. Generalmente estas lesiones darán paso a daño local, zonas de hiperemia, estasis, necrosis, apoptosis, autofagia asociada con muerte celular, así como una respuesta inflamatoria sistémica que busca detener y reparar dicho daño. En años recientes dicha definición ha sido ampliada integrando el daño psicológico y el daño económico que acompañan tanto de forma aguda como crónica a los pacientes, a sus familiares y a la sociedad.

El Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica reportó que durante el año 2013 hubo 126 786 nuevos casos por quemaduras, mientras que de enero a junio de 2014 hubo 65 182. De dichas quemaduras 56% sucedieron en adultos de 20 a 50 años y 32% en niños de 0 a 19 años. 85% de las quemaduras de los adultos sucedieron al estar realizando actividades laborales mientras que las quemaduras de niños sucedieron, en 90% de los casos, dentro de sus hogares, 80% fueron debidas a agua caliente (Moctezuma-Paz et al., 2015).

La atención médica del paciente quemado es muy cara por los gastos prehospituarios y hospitalarios (incluyendo los costos de la biotecnología consumible, estudios paraclínicos, medicamentos, nutrición, etcétera). Se estima que los costos por paciente varían de 30 mil a 500 mil pesos en casos de severidad leve sin disfunción orgánica, de 500 mil a 5 millones de pesos en casos de severidad moderada (con o sin disfunción orgánica) y de 5 a 40

millones en casos severos (con o sin falla orgánica múltiple). En la mayor parte de las ocasiones el gobierno paga dicha atención médica en instituciones de salud pública ya que dichos montos no pueden ser solventados en forma exclusiva por los pacientes y sus familias. Por lo anterior, se concluye que los accidentes y las quemaduras son siniestros prevenibles de alta mortalidad, que producen altos costos en salud y discapacidad permanente en los sobrevivientes; por ello el grupo redactor sugiere se establezca una norma oficial mexicana intersectorial de prevención y tratamiento de siniestros donde se incluya a las quemaduras (Moctezuma-Paz et al., 2012).

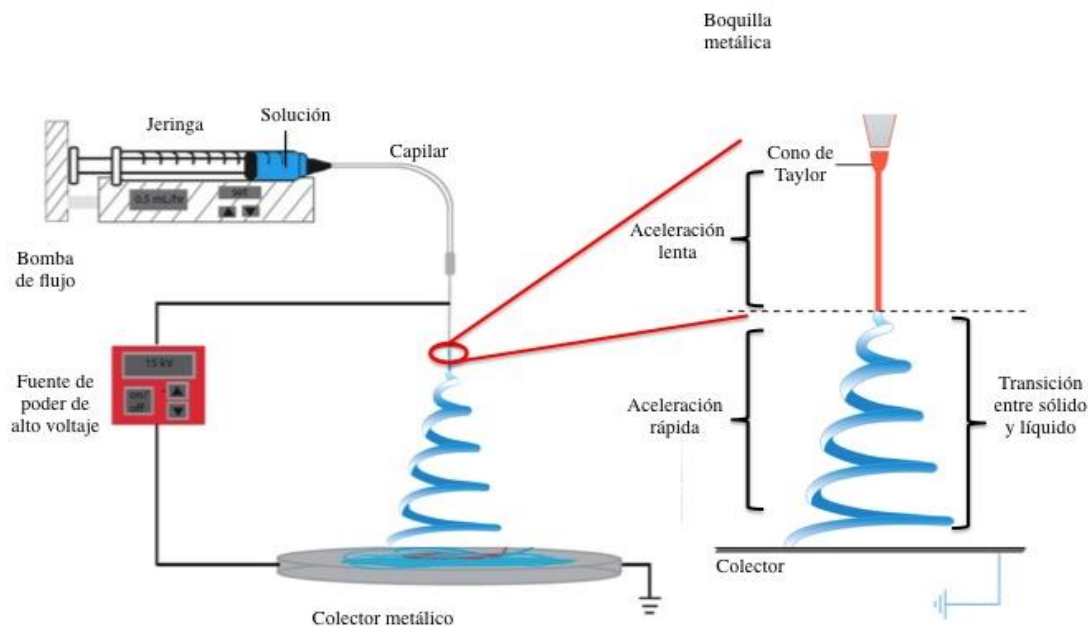
El desarrollo de andamios ideales para la regeneración de los tejidos dañados con plena recuperación de sus funciones biológicas ha sido durante mucho tiempo un objetivo importante en la ingeniería de tejidos. A la luz de este papel fundamental de los andamios de ingeniería de tejidos, existen diferentes técnicas para fabricar matrices 3D con un alto grado de porosidad y la interconexión de los poros, el tamaño de poro adecuado y cierta geometría. Es ampliamente aceptado que la fabricación de andamios a nano y micro escala para imitar la matriz extracelular natural (ECM), es esencial para que la ingeniería de tejidos tenga éxito (Yang et al., 2011).

## **2.2 Electrohilado**

La primera cita detallada de la aplicación de altos potenciales eléctricos para generar aerosoles a partir de gotas de fluidos data de 1745, pero no fue hasta 1929 que la aplicación de campos eléctricos para producir seda artificial fue descrita. Hasta la década de los noventa no había un verdadero interés comercial en técnicas basadas en este principio, aunque si hubo avances realizados y patentes generadas. Ha sido a lo largo de los últimos 15 años que el interés en el electrohilado ha crecido considerablemente (Braghirolli et al., 2014).

El proceso de electrohilado funciona por el principio electroestático. Como se puede apreciar en la Figura 1, el equipo básicamente está compuesto de una jeringa con una boquilla, un colector (que normalmente es una placa metálica), una fuente de campo eléctrico y una bomba. La solución a ser “tejida” es aplicada al sistema mediante la boquilla de la jeringa bajo un flujo definido con ayuda de la bomba. Esta sustancia se encuentra bajo la influencia de un diferencial de voltaje eléctrico presente entre la punta

de la boquilla y el contraelectrodo. Este diferencial, generado por la fuente de poder, causa una deformación de la gota a una especie de cono. El solvente de la solución se evapora camino al contraelectrodo y, al final del proceso, solo quedan filamentos sólidos.

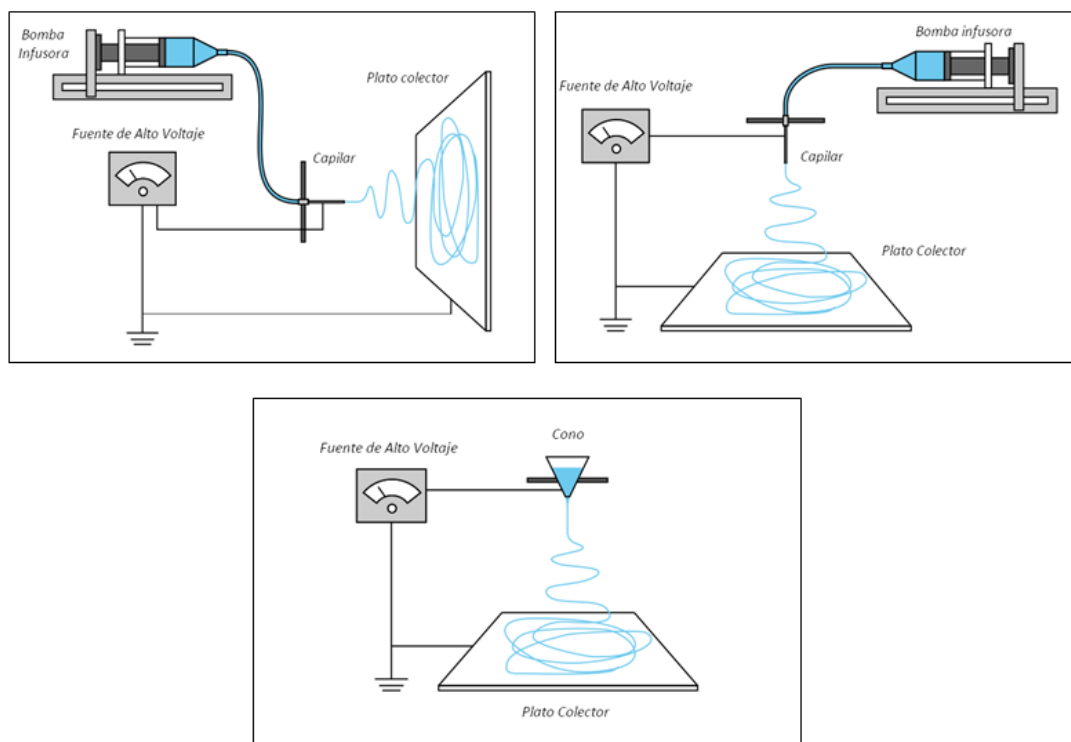


**Figura 1.** Principales componentes del proceso de electrohilado

La técnica puede ser desarrollada de forma horizontal o vertical según se desee. El principal inconveniente al trabajar en posición vertical es la posible salida de gotas de solución desde el capilar hacia el colector las cuales pueden caer sobre las fibras depositadas haciendo defectuosa la superficie de estas e interrumpiendo el proceso. Para impulsar la solución a través del capilar puede utilizarse una bomba de infusión; si se trabaja de forma horizontal con cono como capilar, la salida de la solución puede estar determinada por la fuerza de gravedad ligada a la viscosidad de la solución.

Para el inicio del proceso, el polímero debe estar diluido en el o los solventes que permitan una dilución completa del mismo pero que a la vez promuevan la obtención de fibras homogéneas. Los polímeros son dieléctricos, así que en presencia de un campo eléctrico pueden considerarse como un arreglo de dipolos eléctricos microscópicos compuestos por cargas positivas y negativas cuyos centros no coinciden perfectamente (Duque-Sánchez et al., 2014), se mantienen en su lugar por acción de las fuerzas atómicas y moleculares,

y solo cambian su posición ligeramente como respuesta a fuertes campos eléctricos externos, lo cual explica por qué ocurre el estiramiento de la solución en el proceso. En ocasiones para incrementar las propiedades dieléctricas de la solución, algunos solventes con altas constantes dieléctricas son adicionados (Lee et al., 2003) favoreciendo la formación de fibras con menos estructuras defectuosas (conocidas como “cuentas” o “perlas”, decrecen la superficie por unidad de área del proceso) y con diámetros reducidos (Son et al., 2004). Una vez se tiene la solución en el lugar sea jeringa o cono se inicia la aplicación de alto voltaje, cuando este potencial eléctrico se aplica, las cargas se acumulan promoviendo la formación de una gota en la punta del capilar, a medida que la intensidad del campo eléctrico se incrementa, la gota se alarga para crear una forma cónica conocida como *cono de Taylor*.



**Figura 2.** Variaciones en el ensamble de los componentes del sistema de electrohilado

La fuerza del campo eléctrico supera las fuerzas de cohesión de la solución, en la mayoría de los casos dominada por la tensión superficial, es así como un chorro (jet) de solución de polímero inicia un viaje desde la punta del capilar hasta el colector; en su viaje, el jet de solución polimérica es alargado debido a las interacciones electrostáticas entre las

cargas cercanas a segmentos del mismo jet, mientras tanto, el solvente se evapora, finalmente, las fibras se solidifican a su llegada al colector. Luego de ser extraídas del colector algunos autores sugieren mantener las fibras en vacío para eliminar el solvente remanente (Sridhar et al., 2014). Es importante tener precaución en la ejecución del proceso ya que algunos solventes (cloroformo, dimetilformamida y otros productos químicos) pueden emitir vapores perjudiciales para la salud, por lo que se recomienda incluir sistemas de ventilación y protección para quienes ejecutan el proceso.

### *2.2.1 Parámetros del proceso*

Una gran cantidad de parámetros de diferente naturaleza tienen influencia en el resultado del proceso de electrohilado. Entre estos parámetros se pueden considerar A) condiciones ambientales de la cámara: temperatura, humedad, velocidad del aire; B) propiedades de la solución: elasticidad, viscosidad, conductividad, tensión superficial; C) condiciones físicas: distancia entre la boquilla y el contraelectrodo, potencial eléctrico, flujo, peso molecular del polímero, geometría del colector, etc. (Wendorff et al., 2012). A continuación, se mencionan brevemente algunos de estos parámetros, así como las características que afectan o confieren mediante el proceso de electrohilado.

*2.2.1.1 Concentración de la solución:* es uno de los parámetros determinantes del tamaño y la morfología de las fibras. La concentración de polímero en la solución influencia tanto la viscosidad como la tensión superficial de esta, la viscosidad de una solución de polímero está relacionada con el enredo de las cadenas poliméricas, si las cadenas son menos enredadas, la solución tendrá una viscosidad baja y viceversa. El diámetro de la fibras tiende a aumentar con la viscosidad (Sridhar et al., 2014). Si la solución está muy diluida las fibras de polímero se rompen en gotas antes de llegar al colector debido al efecto de la tensión superficial, de igual forma si la solución está muy concentrada entonces las fibras no se podrán formar debido a la alta viscosidad, lo que dificulta el paso de la solución a través del capilar.

*2.2.1.2 Tensión superficial:* Reduciendo la tensión superficial de una solución de polímero podrían obtenerse fibras sin presencia de cuentas (Duque-Sánchez et al., 2014). La tensión superficial intenta reducir el área superficial por unidad de masa, cambiando los jets por esferas, al aplicar el alto voltaje se busca aumentar la superficie oponiéndose a la

formación de cuentas y favoreciendo la formación de jets más delgados, en este caso es la fuerza viscoelástica la que se resiste a cambios rápidos en la forma. El coeficiente de tensión superficial depende del polímero y el solvente, adicionar solventes como el etanol a una solución con baja tensión superficial, podría contribuir a la obtención de fibras lisas (Stepanyan et al., 2016).

*2.2.1.3 Conductividad de la solución:* soluciones con alta conductividad tendrán mayor capacidad de transportar las cargas de la solución que aquellas con baja conductividad. La adición de sales a la solución incrementa la conductividad y por consiguiente la fuerza eléctrica para el estiramiento del jet, lo que promueve una reducción en el diámetro de las fibras (Rogina, 2014). Se ha encontrado que con el aumento de la conductividad eléctrica de la solución hay una disminución significativa en el diámetro de las fibras mientras que cuando la conductividad es baja se observa un alargamiento insuficiente del jet lo que impide la producción de fibras uniformes (Bhardwaj and Kundu, 2010).

*2.2.1.4 Efecto dieléctrico del solvente:* básicamente éste cumple dos roles importantes dentro del proceso de electrohilado: en primer lugar disolver las moléculas de polímero para formar el jet con carga eléctrica y en segundo lugar llevar las moléculas de polímero disuelto hasta el colector (Martins et al., 2008), es por ello que las propiedades del solvente cumplen un rol fundamental dentro del proceso, la constante dieléctrica por ejemplo tiene gran influencia en el proceso de electrohilado, generalmente una solución con buenas propiedades dieléctricas reduce la formación de cuentas y el diámetro de las fibras resultantes (Agarwal et al., 2009).

*2.2.1.5 Voltaje:* El voltaje es uno de los parámetros más importantes dentro del proceso de electrohilado, algunos autores afirman que aplicar voltajes altos hace que más fluido se transporte en el jet lo que resulta en fibras con mayores diámetros (Hu et al., 2014), otros afirman que un incremento en la aplicación del voltaje decrece el diámetro de las nanofibras, y aumenta la probabilidad de obtener fibras con defectos (cuentas) (Duque-Sánchez et al., 2014), lo cierto es que en la mayoría de los casos un voltaje alto permite un mayor estiramiento de la solución debido a la presencia de mayor fuerza de coulomb en el jet y un fuerte campo eléctrico, todos estos factores promueven una reducción en el diámetro de las fibras (Bayat et al., 2011). La influencia del voltaje depende además de

las propiedades viscoelásticas del material base, por ello es importante analizar el comportamiento para cada polímero con su respectivo solvente.

*2.2.1.6 Flujo de salida:* Un flujo de salida menor podría ser benéfico ya que el solvente tendría más tiempo para evaporarse evitando la formación de defectos en las fibras (Agarwal et al., 2013). Cuando el flujo de salida se incrementa ocurre un incremento en el diámetro de las fibras y posiblemente en el tamaño de los defectos (Rošic et al., 2012). Un mínimo valor de volumen de solución a la salida del capilar debería ser mantenido para obtener un cono de Taylor estable, el flujo de salida determina la cantidad de solución disponible para el proceso de electrohilado.

*2.2.1.7 Distancia entre la punta de la aguja y el colector:* Dependiendo de las propiedades de la solución el efecto de la variación de la distancia puede o no, tener efecto en la morfología de las fibras. Al trabajar con distancias muy grandes las fibras electrohiladas podrían romperse debido a su propio peso, especialmente si las fibras son de diámetro pequeño (Martins et al., 2008). Una mínima distancia es requerida para dar a las fibras el tiempo suficiente para que el solvente se evapore antes de alcanzar el colector, con distancias muy grandes o demasiado pequeñas se ha observado la aparición de cuentas (Stepanyan et al., 2016) o fibras húmedas que promueven la obtención de fibras aplanadas o con forma de cintas. La mayoría de los autores coinciden en que con mayores distancias la solución tendrá mayor tiempo de vuelo lo que promoverá un mayor estiramiento de las fibras antes de depositarse en el colector (Duque-Sánchez et al., 2014).

*2.2.1.8 Parámetros ambientales:* Se ha evaluado la influencia de la humedad en las fibras obtenidas por medio de la técnica de electrohilado y se demostró la aparición de pequeños poros circulares en la superficie de las fibras debido al aumento en la humedad. El agua condensada en la superficie de las fibras, al trabajar con alta humedad, puede tener influencia en la morfología de las fibras especialmente cuando se trabaja con solventes volátiles (Bhardwaj and Kundu, 2010). Los poros pueden promover una transferencia de proteínas y una migración celular mucho más ágil y fácil en ingeniería de tejidos. La humedad en el ambiente podría determinar la velocidad de evaporación del solvente en la solución, a humedad relativa baja un solvente volátil podría evaporarse muy rápido. Por

su parte la temperatura puede incrementar la rata de evaporación y puede ocasionar una reducción en la viscosidad de la solución (Wendorff et al., 2012).

**Tabla 1.** Resumen general de los parámetros y sus aportaciones en las características de las fibras obtenidas mediante el proceso de electrohilado.

Parámetro	Característica que aporta
Concentración de la solución	Λ Dificulta el paso de la solución por el capilar.
	✓ Las fibras se rompen en gotas antes de llegar al colector.
Tensión superficial	Λ Presencia de cuentas en las fibras.
	✓ Se obtienen fibras lisas. Se pueden adicionar solventes con menor tensión como el etanol.
Conductividad de la solución	Λ Mayor transporte de cargas, mayor estiramiento de la solución, fibras más delgadas.
	✓ Menor transporte de cargas, menor estiramiento de la solución, fibras más gruesas.
Voltaje	Λ Fibras gruesas, aparición de cuentas.
	✓ Poco impulso para la solución llegue al colector.
Flujo de salida	Λ Fibras más gruesas, cuentas de mayor diámetro.
	✓ Mayor tiempo para evaporación del solvente. No cuentas.
Distancia del colector	Λ Las fibras pueden romperse por su propio peso. Mayor estiramiento de la solución, generando fibras delgadas.
	Λ Aparición de cuentas si la distancia es demasiado larga o corta.
	✓ Poco tiempo de evaporación del solvente, por lo que las fibras llegan húmedas.
Humedad relativa	Λ Aparición de poros en las nanofibras.

“Λ “ Aumento del diámetro de las fibras obtenidas. “✓” Disminución del diámetro de las fibras obtenidas.



Entre los avances importantes de la técnica de electrohilado está la producción de fibras de sólo algunos nanómetros de diámetro, áreas de gran porosidad que pueden imitar la estructura de la matriz extracelular en términos de dimensiones y propiedades químicas (Agarwal et al., 2009).

Tomando en cuenta los parámetros mencionados y algunas características del ambiente, se ha observado que la morfología de las fibras obtenidas mediante electrohilado puede variar (Duque-Sánchez et al., 2014), aunado a esto las aplicaciones en las cuales se han utilizado. Ejemplos de la morfología de fibras y algunas de las aplicaciones en las que se han utilizado se muestran en la Tabla 2.

### *2.2.2 Áreas de aplicación del electrohilado*

Las propiedades físicas y químicas de la materia se comportan de forma diferente a escala nanométrica que respecto a como lo hacen a escala macrométrica. Debido a las propiedades únicas que son conferidas a las fibras de polímeros elaboradas mediante electrohilado, se han implementado en diversos campos científicos. Entre las aplicaciones con mayor interés se pueden mencionar las siguientes:

*2.2.2.1 Tecnología textil:* El campo de la estructura del tejido es un ámbito en el cual se lleva investigando a lo largo de la historia. En este momento, la aplicación de fibras de electrohilado en este ámbito también es posible. Los tejidos de nanofibras son capaces de neutralizar agentes químicos sin dejar de ser permeables al aire y al vapor debido a su gran superficie. El electrohilado produce capas de nanofibras que presentan una alta porosidad, pero tamaños de poros muy pequeños. Esta característica le proporciona buena resistencia a la penetración de agentes químicos nocivos en forma de aerosoles (Bognitzki et al., 2001).

La investigación preliminar indica que, en comparación con los tejidos convencionales, las capas de fibras por electrohilado presentan simultáneamente una impedancia mínima a la difusión de vapor de agua y una eficiencia extrema en atrapar partículas de aerosoles. Este tipo de tejidos serían buenos candidatos en vestimentas protectoras (Agarwal et al., 2013).

**Tabla 2.** Ejemplos de los parámetros involucrados en la obtención de diferentes morfologías en las fibras de electrohilado y aplicaciones en que se han implementado.

<b>Tipo de fibra</b>	<b>Parámetros Involucrados</b>	<b>Aplicaciones</b>
Aplanadas o Cintas	Se atribuyen a la formación de una capa de polímero en la superficie de la fibra por la evaporación desigual del solvente. Puede influir mucho el tipo de solvente y la adición de sales a la solución.	Sistemas de biosensores, por la capacidad de transferir electrones y una actividad electroquímica.
Helicoidales	Se presentan por la deformación del jet debido al impacto con el plato colector. La concentración de la solución promueve esta morfología. El ángulo de incidencia del jet influye en la obtención de esta morfología.	Nano y microsistemas electromecánicos y electromagnéticos, componentes ópticos avanzados, sistemas de liberación de fármacos.
Ramificadas	Relacionadas con la aparición de jets secundarios en la superficie del primer jet. La inestabilidad entre las fuerzas eléctricas y la tensión superficial generan inestabilidad del jet.	En el caso de liberación de fármacos, puede promover la acumulación de medicamento en algunas regiones de la muestra.
Huecas	Obtenidas mediante electrohilado coaxial.	Nanodispositivos electrónicos y optoelectrónicos, conversión de energía, liberación de fármacos, protección ambiental, sensores, etc.
Fibras con poros	Aparecen por una humedad relativa y presión de vapor del solvente.	Ingeniería de tejidos, catálisis, sensores.

*2.2.2.2 Aplicaciones ópticas y eléctricas.* La tecnología es otro de los campos en los que la técnica de electrohilado se abre camino. Actualmente se está intentado producir pequeños dispositivos electrónicos y baterías de alto rendimiento (con electrodos porosos) a partir de nanofibras que provienen de polímeros conductores. El principio de estas baterías es que la velocidad de reacción electroquímica es función de la superficie del electrodo. Este tipo de matrices también pueden ser útiles para aplicaciones en las que sea necesaria la disipación electrostática, la protección de la corrosión, el aislamiento electromagnético, etc. (Duque-Sánchez et al., 2014).

*2.2.2.3 Refuerzo de materiales:* Se está trabajando en el refuerzo de materiales, de tal modo que permitan ser sometidos a mayor carga, tensión o deformación mecánica. Hasta el momento, los esfuerzos se han dirigido a desarrollar las propiedades físicas (ópticas y eléctricas) y químicas, y a mantener a las prestaciones mecánicas en niveles correctos. Esta aplicación del método también presenta ciertas limitaciones, una de ellas es en el campo del refuerzo, ya que aún no se han obtenido fibras continuas y uniaxiales que puedan dar una mayor resistencia al material. Otra carencia importante en éste campo recae en que los polímeros que mejor funcionan en el momento de dar fibras, no siempre son los más indicados para los refuerzos estructurales de materiales (Tekmen et al., 2008).

*2.2.2.4 Cosméticos:* Los compuestos procesados mediante electrohilado se han utilizados como cosméticos en mascarillas para el cuidado y limpieza de la piel con o sin aditivos (Duque-Sánchez et al., 2014). Estas mascarillas tienen ventajas de mayor área lo que facilita una mejor utilización y también acelera la tasa de transferencia de aditivos a la piel (Hu et al., 2014). Para la salud y renovación de la piel, factores revitalizantes pueden ser embebidos en las mascarillas de nanofibras (Agarwal et al., 2008). Debido al tamaño tan pequeño de poro y la alta relación superficie-volumen, las nanofibras por electrohilado tienen un gran potencial para ser usadas en el cuidado de la piel.

### *2.2.3 Aplicaciones en ingeniería de tejidos*

Una de las áreas con mayor que ha tenido importantes desarrollos, y para fines prácticos es más importante para este trabajo, es la relacionada a la ingeniería de tejidos. Es un área multidisciplinaria que combina los principios de la ingeniería y de las ciencias de la vida para el desarrollo de sustitutos biológicos y también para la restauración, mantenimiento o la mejora de las funciones de tejidos. La investigación de biomateriales es un campo que juega un rol primordial en la ingeniería de tejidos al proveer de matrices para el crecimiento celular, la proliferación y la formación tisular en tres dimensiones. Al ser comparado con otras técnicas como el auto ensamble y la separación de fases, el electrohilado provee formas más simples y con mejor aprovechamiento de costos para producir andamios moleculares que posean estructuras con poros interconectados y cuyas fibras tengan diámetros en rangos nanométricos (Bhardwaj & Kundu, 2010).

*2.2.3.1 Andamios para ingeniería de tejidos:* Una de las consideraciones clave del proceso es la elección del material, lo cual depende de la aplicación que se esté buscando. Para propósitos relacionados con la biotecnología médica, son preferidos los polímeros biocompatibles y biodegradables. La elección está comúnmente basada en las propiedades del tejido cercano al cual se expondrá el polímero. Algunas veces se busca obtener materiales con propiedades de dos o más polímeros, casos en los que mezclas de polímeros son usadas para el electrohilado (Agarwal et al., 2008).

En esta última área es que una correcta elección de los polímeros para la formación de las matrices tiene un papel aún más esencial que el que juega en otras áreas dónde el electrohilado ha sido aplicado, ya que las características de biocompatibilidad y biodegradabilidad influyen de gran forma.

## **2.3 Polímeros**

Los polímeros son los materiales más utilizados en las aplicaciones biomédicas, se clasifican en sintéticos y biopolímeros naturales. Los polímeros sintéticos aportan ventajas sobre los polímeros naturales en la producción de una amplia gama de tasas de degradación y propiedades mecánicas. La composición de los polímeros sintéticos puede diseñarse para reducir al mínimo la respuesta inmunitaria y combinar las buenas propiedades entre sí. Por otro lado, están los polímeros naturales, los cuales exhiben propiedades similares a las de los tejidos blandos. Estos materiales se obtienen de fuentes naturales. Por lo tanto, tienen que ser purificados para evitar la respuesta de cuerpos extraños después de su implantación. Ejemplos de polímeros naturales son la gelatina, el dextrano, la fibrina, la fibronectina, la agarosa/alginato y el ácido hialurónico. Estos pueden ser fácilmente procesados y moldeados, además son inertes a los tejidos del huésped y están disponibles a un costo razonable. Los polímeros biodegradables son generalmente seleccionados para sistemas de administración de drogas, ya que no necesita cirugía para ser removido después de la liberación de las drogas y puede ser excretado por el propio cuerpo (Sultana et al., 2015).

La PVP es un importante polímero sintético cuyo monómero consta de carbono, hidrógeno, oxígeno y nitrógeno. Reportado por primera vez en una patente hace 60 años mencionando un conjunto de propiedades como buena adhesión, baja toxicidad, alta

higroscopicidad, excelente compatibilidad fisiológica, alta solubilidad en agua y solventes orgánicos, etc. Debido al rango tan amplio de características que presenta este polímero, actualmente se utiliza en una gran cantidad de aplicaciones como adhesivos, pinturas, detergentes, electrónicos, bebidas, cosméticos, fármacos, materiales para ingeniería biológica, entre otras (Chuangchote et al., 2009).

Las características moleculares de PVP le valieron su uso temprano como extensor de plasma de la sangre. Actualmente el uso del complejo PVP-Yodo se ha convertido en universal para la desinfección de heridas ya que se ha encontrado que es menos tóxico que las tinturas de yodo. El PVP tiene un largo historial en las aplicaciones biomédicas y farmacéuticas y en la actualidad los sistemas de administración de fármacos basados en PVP están bajo intensa investigación (Knappe et al., 2010).

Desde el primer reporte de fibras de PVP obtenidas mediante electrospinning, por Bognitzki et al. (2001), se ha usado ampliamente en la obtención de fibras junto con otros materiales como biopolímeros y otros compuestos mediante diversas mezclas con la finalidad de emplear las fibras en medicina y aplicaciones biológicas (Chuangchote et al., 2009).

Por otro lado, está a la gelatina (GEL), un polímero natural obtenido a través de la desnaturalización térmica de antes mencionado o la degradación física y química, siendo más barato y no muestra la antigenicidad en condiciones fisiológicas. Existen dos tipos, A y B, siendo la tipo A obtenida mediante la hidrólisis ácida de la piel de cerdo con HCl y H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Es soluble en alcoholes polihídricos (glicerol, propilenglicol) y en varios disolventes orgánicos (trifluoroetanol, ácido acético, formamida) (Ranganathan et al., 2019).

Su uso ha ganado mucha importancia en los campos de la ingeniería biomédica, la ingeniería de tejidos y los cosméticos y en la industria alimentaria. Se considera un biomaterial realmente bueno por ser biodegradable, biocompatible, muestra abundantes secuencias RGD, las cuales son sitios de unión de la integrina para la adhesión celular y la diferenciación, además de que puede combinarse fácilmente con una amplia gama de polímeros naturales y sintéticos para el desarrollo de andamiajes para defectos cardiovasculares, óseos, oculares, musculares, hepáticos y cutáneos. Por estas razones la

gelatina es ampliamente utilizado en los campos farmacéuticos y médicos en una variedad de aplicaciones, incluyendo la ingeniería de tejidos, apósitos para heridas, administración de fármacos y terapia génica (Klimek and Ginalska, 2020b; Panzavolta et al., 2011).

La celulosa y sus derivados son los polisacáridos renovables más abundantes que se han utilizado durante muchos años en diversas aplicaciones, especialmente como apósitos para heridas. El acetato de celulosa (AC) es uno de los derivados de la celulosa más importantes (Khalili et al., 2016). En las últimas décadas se ha prestado gran atención a las fibras de celulosa y sus derivados debido a su bajo costo, ligereza, fácil procesamiento, biodegradabilidad, buenas propiedades mecánicas, de barrera y reciclaje (Tsekova et al., 2017), mostrando un gran potencial como material médico y aplicaciones de ingeniería de tejidos como fibra funcional y compuesto reforzado (Park et al., 2020).

Estos polímeros se pueden procesar fácilmente en estructuras porosas tridimensionales con el comportamiento de degradación adecuada y resistencia mecánica. Se encuentran entre los polímeros biodegradables y biocompatibles, y sus mezclas tienen amplias aplicaciones como suturas quirúrgicas, materiales de implante, portadores de fármacos, y andamios para la ingeniería de tejidos (Linh and Lee, 2012).

La gentamicina (GEN) es un aminoglucósido utilizado comúnmente en el tratamiento y la profilaxis de las infecciones bacterianas. Al igual que otros aminoglucósidos, tiene un período de semidesintegración relativamente corto, una baja biodisponibilidad y puede causar efectos secundarios como la ototoxicidad y la nefrotoxicidad. (Gutiérrez et al., 2018; Mosselhy et al., 2016).

Actualmente para recubrir las heridas y quemaduras, la gelatina se administra en varias formulaciones: gelatina-alginato entrecruzados y esponjas de gelatina-hialuronato, las cuales presentan propiedades de cicatrización de heridas en la piel dorsal de las ratas Wistar, así como también hay aplicaciones de factor de crecimiento epitelial (EGF) contenido en apósitos para heridas a base de gelatina en caso de pérdida de la mayor parte del tejido o heridas que no cicatrizan como quemaduras, traumatismos, diabetes, úlceras diabéticas y venosas, así como también se ha empleado el polímero en cirugía ortopédica y traumatología (Mogoanu and Grumezescu, 2014).

### **3. JUSTIFICACIÓN**

En México se reportan alrededor de 200 mil nuevos casos de lesiones por quemaduras. Se conoce que el 56% ocurren en adultos de 20 a 50 años y 32% en niños de 0 a 19 años. Las lesiones por quemaduras, tan solo en niños, cuesta al año 492 millones de pesos en nuestro país, además el costo por incapacidad medica en la población económicamente activa es un indicador que debe ser medido y reportado. El costo de atención específicamente por este tipo de lesiones en nuestro país está relacionado con el costo hospitalario y/o los materiales que se requieren para su tratamiento, los cuales dependiendo de la gravedad pueden ser cuantiosos. El contar con biomateriales (apósitos) que permitan el manejo ambulatorio por parte de los pacientes en lesiones leves, podría disminuir los costos al no requerir hospitalización para su tratamiento, así como ofrecer un tratamiento alternativo competitivo con los existentes. Por lo que en este trabajo nos propusimos la elaboración de matrices por electrohilado basadas en polímeros con propiedades fisicoquímicas que sean biocompatibles, así como biodegradables como lo son la PVP, la GEL y el AC, que además permitan su activación a través de la adición de agentes con actividad antimicrobiana, en este caso la gentamicina, y/o la posible proliferación celular.

#### **4. HIPÓTESIS**

Es posible obtener un andamio bicapa de polivinil pirrolidona (PVP), gelatina (GEL) y acetato de celulosa (AC) obtenido mediante la técnica de electrohilado adicionado con gentamicina, el cual presenta características fisicoquímicas y biológicas deseables en un biomaterial para su posible uso como para recubrimiento de heridas epidérmicas.



## 5. OBJETIVO DEL TRABAJO

Elaborar un andamio polimérico a base de polivinil pirrolidona (PVP), gelatina (GEL) y acetato de celulosa (AC) mediante el proceso de electrohilado y evaluar su actividad antimicrobiana y/o de proliferación celular para su posible uso en biomedicina.

### 5.1 Objetivos particulares:

- 5.1.1 Obtener formulaciones poliméricas de PVP, GEL y AC cuyas características permitan procesarlas mediante electrohilado para elaborar el andamio de dos capas.
- 5.1.2 Caracterizar física y químicamente el andamio bicapa obtenido mediante: microscopía electrónica de barrido, espectroscopia infrarroja, análisis térmicos y ángulo de contacto.
- 5.1.3 Activar el andamio con gentamicina.
- 5.1.4 Evaluar la actividad antimicrobiana del andamio contra *P. aeruginosa* y *S. aureus*.

## 6. MATERIAL Y MÉTODOS

La realización de este proyecto se llevó a cabo en distintas instalaciones de la Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL), principalmente en el Laboratorio L1 del Instituto de Biotecnología (IB) de la Facultad de Ciencias Biológicas (FCB).

De la misma manera se contó con la colaboración de la Facultad de Ciencias Físico-Matemáticas (FCFM) de la UANL, así como diversos campus de la Universidad Veracruzana (UV) mediante una estancia de investigación.

### 6.1 Elaboración de las soluciones poliméricas

Los polímeros fueron probados a 4 concentraciones 8, 12, 16 y 20% (p/v) y la solubilidad de estos en distintos solventes (etanol anhidro y ácido acético). Por otro lado, las mezclas de PVP y GEL (PVP:GEL) se realizaron a 4 distintas proporciones (1:4; 2:3; 3:2; 4:1). Los criterios para seleccionar las mezclas de los polímeros más adecuadas para su electrohilado fueron:

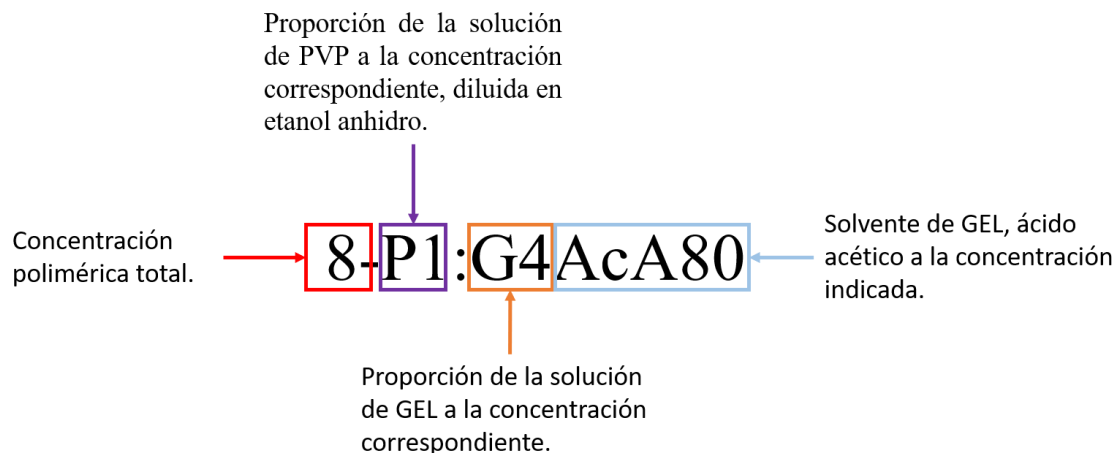
- Solubilidad
- Miscibilidad
- pH
- Conductividad

El resumen de las soluciones elaboradas se muestra en la Tabla 3.

**Tabla 3.** Parámetros a variar para el procesamiento de las soluciones poliméricas mediante electrohilado.

Polímero	Solvente	Concentración (%p/v)	Mezclas
PVP	Etanol anhidro (100%)	8 a 20	1:4
GEL	Ácido acético: 20, 40, 60 y 80%	8 a 20	2:3 3:2 4:1
AC	Ácido acético: 20, 40, 60, 80 y 100%	8 a 20	-

## Listado de las soluciones poliméricas preparadas:



## Mezclas de PVP y GEL

- |                 |                 |                 |
|-----------------|-----------------|-----------------|
| 1. 8P1G4AcA80   | 20. 12P4G1AcA80 | 39. 16P3G2AcA60 |
| 2. 8P2G3AcA80   | 21. 12P1G4AcA60 | 40. 16P4G1AcA60 |
| 3. 8P3G2AcA80   | 22. 12P2G3AcA60 | 41. 16P1G4AcA40 |
| 4. 8P4G1AcA80   | 23. 12P3G2AcA60 | 42. 16P2G3AcA40 |
| 5. 8P1G4AcA60   | 24. 12P4G1AcA60 | 43. 16P3G2AcA40 |
| 6. 8P2G3AcA60   | 25. 12P1G4AcA40 | 44. 16P4G1AcA40 |
| 7. 8P3G2AcA60   | 26. 12P2G3AcA40 | 45. 16P1G4AcA20 |
| 8. 8P4G1AcA60   | 27. 12P3G2AcA40 | 46. 16P2G3AcA20 |
| 9. 8P1G4AcA40   | 28. 12P4G1AcA40 | 47. 16P3G2AcA20 |
| 10. 8P2G3AcA40  | 29. 12P1G4AcA20 | 48. 16P4G1AcA20 |
| 11. 8P3G2AcA40  | 30. 12P2G3AcA20 | 49. 20P1G4AcA80 |
| 12. 8P4G1AcA40  | 31. 12P3G2AcA20 | 50. 20P2G3AcA80 |
| 13. 8P1G4AcA20  | 32. 12P4G1AcA20 | 51. 20P3G2AcA80 |
| 14. 8P2G3AcA20  | 33. 16P1G4AcA80 | 52. 20P4G1AcA80 |
| 15. 8P3G2AcA20  | 34. 16P2G3AcA80 | 53. 20P1G4AcA60 |
| 16. 8P4G1AcA20  | 35. 16P3G2AcA80 | 54. 20P2G3AcA60 |
| 17. 12P1G4AcA80 | 36. 16P4G1AcA80 | 55. 20P3G2AcA60 |
| 18. 12P2G3AcA80 | 37. 16P1G4AcA60 | 56. 20P4G1AcA60 |
| 19. 12P3G2AcA80 | 38. 16P2G3AcA60 | 57. 20P1G4AcA40 |

58. 20P2G3AcA40

59. 20P3G2AcA40

60. 20P4G1AcA40

61. 20P1G4AcA20

62. 20P2G3AcA20

63. 20P3G2AcA20

64. 20P4G1AcA20

#### Soluciones de AC

65. 8ACAcAG

66. 8ACAcA80

67. 8ACAcA60

68. 8ACAcA40

69. 8ACAcA20

70. 12ACAcAG

71. 12ACAcA80

72. 12ACAcA60

73. 12ACAcA40

74. 12ACAcA20

75. 16ACAcAG

76. 16ACAcA80

77. 16ACAcA60

78. 16ACAcA40

79. 16ACAcA20

80. 20ACAcAG

81. 20ACAcA80

82. 20ACAcA60

83. 20ACAcA40

84. 20ACAcA20

Todas las soluciones poliméricas se prepararon de acuerdo con la concentración correspondiente siguiendo el mismo procedimiento que se describe a continuación:

Se determinó la masa del polímero correspondiente a la concentración a preparar y el volumen del solvente requerido para completar el volumen final deseado. Para una mejor solubilidad en las placas de agitación magnética (Cimarec+, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EUA), se utilizaron frascos de fondo plano. Las velocidades de agitación fluctuaron entre 600-800 rpm, de acuerdo con la mezcla y la temperatura máxima utilizada fue de 50° C.

Durante la agitación se cubrieron los frascos para evitar la evaporación de los solventes y reducir el tiempo de solubilización. Una vez solubilizado el polímero se dejó en agitación lenta sin calor para disolver las burbujas formadas por la agitación.

##### *6.1.1 Solubilidad*

El tiempo para la solubilidad máxima de los polímeros fue de 18 h, tiempo en el cual no se observaba la presencia de grumos que pudieran interferir con el proceso de electrohilado.

##### *6.1.2 Miscibilidad*

Para la mezcla de PVP y GEL, en base al grado de miscibilidad alcanzadas en agitación por 18 h, se seleccionaron los solventes y las proporciones de los polímeros respectivamente a los cuales se les determinó pH y conductividad eléctrica.

### 6.1.3 pH

Para determinar el valor de pH de las soluciones poliméricas se empleó un potenciómetro (542, Corning Pinnacle, NY, EUA) el cual fue calibrado empleando soluciones estándar a pH 7 y 4, a temperatura de 23°C.

### 6.1.4 Conductividad

Los valores se registraron usando con un conductímetro (542, Corning Pinnacle, NY, EUA), utilizando una solución calibradora con una conductividad de 1,413  $\mu$ S. Las soluciones con valores de conductividad fueron seleccionadas para el proceso de electrohilado.

## 6.2 Proceso de electrohilado

### 6.2.1 Parámetros del proceso de electrohilado

En un equipo “Standard unit NEU-01” (Tong Li Tech, Shenzhen, China) se variaron los principales parámetros que afectan al proceso. Inicialmente la combinación de los parámetros se fue descartando en base a la formación estable del cono de Taylor y el jet en la punta del inyector, posteriormente parámetros como la obtención de fibras en el colector, ausencia de solvente colectado, una menor formación de cuentas y diámetros de fibras y poros fueron considerados. Los parámetros considerados y los valores de cada uno se presentan en la Tabla 3.

**Tabla 3.** Parámetros evaluados para el procesamiento de las soluciones poliméricas mediante electrohilado.

Parámetro	Unidad	Rango
Flujo de alimentación	ml/h	0.1 a 5.0
Voltaje aplicado	kV	10 a 30
Distancia inyector-colector	cm	10 a 30

Las etapas para probar los parámetros de flujo, voltaje y distancia al colector fueron las siguientes:

Primero se confirmó que la solución en turno pudiese fluir bajo las condiciones que se configurasen en el equipo dentro del rango antes establecido mencionado en la Tabla 3.

Como segunda etapa se evaluaron las distintas combinaciones entre el flujo de alimentación y el voltaje aplicado, tomando como positiva la combinación que resultase en la formación del cono de Taylor y del jet de eyección en la punta del inyector estable.

Posteriormente se procedió a evaluar las distancias a las cuales, bajo las combinaciones anteriormente determinadas, se lograra depositar material polimérico en la placa del colector.

Las combinaciones con los mejores resultados fueron observadas mediante microscopía óptica.

Como punto final para la generación del andamio polimérico, se consideró el tiempo de procesamiento del material. En este punto se hace referencia al periodo bajo el cual se ha de mantener el procesamiento para poder retirar la matriz del colector y poder así realizar las pruebas de caracterización y actividad antibacteriana.

## **6.3 Caracterización del material**

### *6.3.1 Microscopía Óptica*

Se empleó un protocolo de discriminación preliminar mediante microscopía óptica para las muestras resultantes de procesamientos por electrohilado en las que los parámetros de su elaboración llevasen a la presencia de características morfológicas no deseables como:

- Presencia de solvente residual en el colector.
- Ausencia de formación de fibras.
- Deformaciones y/o falta de integridad en las fibras.
- Fibras con diámetros por encima de 1  $\mu\text{m}$ .

La metodología para realizar estas observaciones por microscopía óptica se llevó a cabo mediante un muestreo en tiempo real de los resultados generados por el proceso de electrohilado bajo las distintas combinaciones de los diversos parámetros que se han enmarcado en la sección anterior de este trabajo.

Una vez estabilizado el cono de Taylor y una continua expulsión de la solución polimérica se colocó un portaobjetos sobre el colector metálico, reanudando el procesamiento de la solución polimérica durante un tiempo de 60 s.

Posteriormente se procedió a realizar observaciones usando un microscopio (DM300, Leica Microsystems, Wetzlar, Germany) empleando 100 y 400 x aumentos, tomado imágenes fotográficas para posteriormente realizar mediciones aproximadas del diámetro de las fibras observadas, mediante el uso del software ImageJ (v1.52a Abramoff et al., 2004), utilizando una cámara de Neubauer (Luzeren, Jalisco, México) como referencia establecer la escala en las observaciones realizadas. Todas las observaciones fueron por triplicado.

Las condiciones de electrohilado con las que no se obtuvo formación de fibras o características morfológicas no deseables fueron descartadas.

### *6.3.2 Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)*

Esta técnica se fundamenta en el uso de un haz de electrones sobre la muestra focalizada en donde los electrones son absorbidos por esta superficie, de esta manera se produce una emisión secundaria de electrones, los cuales son captados por un integrador y transductor de imagen, para ser exhibidos de esta manera en una pantalla.

Las características de la morfología y la topografía del material obtenido en este trabajo fueron analizadas por SEM (Nova NanoSEM 200, FEI, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EUA). Las muestras tuvieron que recubrirse previamente con oro durante 180 s para su visualización.

El diámetro medio de las fibras se determinó utilizando el programa ImageJ. Para obtener el diámetro promedio de las fibras y los poros, se tomaron 100 mediciones a diferentes fibras dentro de cada una de las muestras. De la misma manera fueron medidos los diámetros de los poros.

### 6.3.3 Adición de la gentamicina

La adición del antibiótico se realizó de manera porcentual, empleando como se ha mencionado antes, una solución con concentración de 160 mg/ml. Inicialmente se procedió a añadir a la solución de PG el volumen de gentamicina necesario para una concentración total del 1% (v/v). Una vez homogenizada la mezcla, se procedió a su procesamiento por electrohilado bajo las mismas condiciones antes determinadas para posteriormente evaluar si el material presentara actividad antibacteriana. En caso de que la solución no presentase tal acción, se procedería a preparar una nueva solución polimérica con una concentración de gentamicina del 2% (v/v) y así consecutivamente hasta el 10% (v/v).

A partir de este punto se procedió a la generación del andamio de dos capas, pues ya se había logrado generar una capa de PG cuya actividad antibacteriana era similar a la exhibida por el control (solución de gentamicina a 160 mg/ml). Tales resultados se muestran más adelante en la sección de “*Actividad Biológica*”. Para la generación de la primera capa del andamio, se procesó la solución de PG+gen durante 180 min. Posterior a este lapso se procedió a la formación de la segunda capa compuesta por la solución de AC. Tal capa se procesó durante 40 min.

### 6.3.4 Espectroscopía Infrarroja por la Transformada de Fourier (FTIR)

Este método es probablemente uno de los más extensamente empleados para el análisis de grupos químicos funcionales y la investigación de estructuras poliméricas. Se basa en la absorción de energía de un haz de luz infrarroja por parte de una molécula siempre que la energía que incida sea igual a la necesaria para resultar en una transición vibracional de la molécula mencionada.

Debido a que cada material diferente es una combinación única de átomos, no existen dos compuestos que produzcan exactamente el mismo espectro de infrarrojos, pero sí con una alta similitud. Por lo antes mencionado, la espectroscopía infrarroja puede dar lugar a una identificación positiva, mediante un análisis cualitativo de diferentes materiales.

La detección de las señales correspondientes a los grupos químicos característicos de los materiales utilizados para producir el andamiaje polimérico se analizó mediante



espectroscopia de reflexión total atenuada por transformada de Fourier (ATR/FTIR), llevada a cabo con un Nicolet iS10 equipado con un accesorio Smart OMNI-Transmission (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EUA). Los espectros se registraron con una resolución de  $4\text{ cm}^{-1}$  (64 escaneos) en el rango de  $4000 - 650\text{ cm}^{-1}$ . Para analizar más a fondo los espectros, se utilizó el Essential FTIR® versión 3.50.194.

### *6.3.5 Humectabilidad*

Esta prueba puede definirse como el ángulo que se forma entre la superficie de un líquido al entrar en contacto con una superficie sólida. El valor de este ángulo depende principalmente de la relación que exista en las fuerzas adhesivas del líquido y del sólido, y las fuerzas cohesivas del líquido propio. En el momento en que una fase líquida entra en contacto con una sólida, forman una interfase común. Esta capacidad por parte de los sólidos para formar interfases con los líquidos es a lo que se le llama mojabilidad.

Para determinar la capacidad de un sólido a ser mojado por un líquido, se realiza la medición del ángulo de contacto ( $\theta$ ) formado en tal interfase. El perfil que la gota adopte es el resultado del balance entre las fuerzas de la superficie y las de la interfase. Así bien, por convenio se entiende que cuando  $\theta < 90^\circ$  se dice que el líquido moja al sólido. Como es de entender, si el caso es que  $\theta > 90^\circ$ , el sistema no moja.

Para este estudio, se realizaron mediciones de los ángulos de contacto exhibidos por las capas que componen el material PG+GEN/AC para evaluar las características de mojabilidad de las capas del andamiaje, utilizando un Analizador de Forma de Gota (DSA30S, Krüss, Hamburgo, Alemania) mediante la aplicación de  $2\text{ }\mu\text{l}$  de buffer de acetatos pH 5.5. Cada valor del ángulo de contacto correspondía al valor medio de los ángulos de contacto izquierdo y derecho en un momento dado. Las mediciones se realizaron por triplicado.

### *6.3.6 Análisis Térmico*

Con el objetivo de determinar el comportamiento del material en función de la temperatura, se pueden realizar distintos análisis que comprenden un amplio número de técnicas. En lo concerniente al campo de los polímeros, las técnicas de este tipo más empleadas son las siguientes.

El análisis termogravimétrico (TGA) registra de manera continua los cambios que sufre la masa de una muestra dentro de una atmósfera controlada, la cual puede ser oxidante o inerte, en función de la temperatura o en función del tiempo. En el desarrollo de este trabajo, se utilizó el primer caso, en el cual se aumentó de forma lineal la temperatura. El TGA se realizó en el un analizador Q-50 (TA Instrument Inc., Waters LLC, New Castle, DE, USA). Las muestras (~10 mg) se colocaron en bandejas de alúmina y se realizaron recorridos en el rango 37-400°C, con una tasa de calentamiento de 10°C/min bajo atmósfera de nitrógeno.

La calorimetría diferencial de barrido (DSC) se fundamenta en registrar los cambios en la entalpía entre la muestra y un material inerte de referencia son sometidos a una rampa o ciclos de temperatura controlados. Ambos cuerpos son colocados en crisoles idénticos, los cuales son calentados de manera independiente. Al producirse una transición térmica en la muestra, tiene lugar una liberación o absorción de calor lo cual genera que se adicione energía térmica ya sea a la muestra o a la referencia con la intención de mantener ambas a la misma temperatura. Considerando que la energía térmica en magnitud es equivalente a aquella liberada o absorbida en la transición, el balance de energía resulta en una medición calorimétrica de la energía de la transición. Con relación a los polímeros, las transiciones térmicas con mayor relevancia son la transición vítrea ( $T_g$ ) y la temperatura de fusión ( $T_m$ ).

En el caso del andamiaje obtenido, su comportamiento térmico fue evaluado por DSC. Las muestras se calentaron en el rango de temperaturas de 37 a 400°C a una tasa de calentamiento de 10°C/min bajo nitrógeno DSC Q2000 (TA Instrument Inc., Waters LLC, New Castle, DE, USA).

#### **6.4 Actividad antibacteriana**

El método de difusión en disco de Kirby-Bauer es una alternativa viable para la determinación de la resistencia bacteriana a los antibióticos. Cuando se coloca un disco de papel de filtro impregnado con una concentración conocida de un compuesto antimicrobiano en una placa de agar, inmediatamente se absorbe el agua del agar en el disco. De esta manera el antimicrobiano comienza a difundir en el agar circundante, siendo la velocidad de difusión a través del agar menor a la velocidad de extracción del

compuesto antibiótico del disco, por lo tanto, la concentración del antimicrobiano es mayor cerca del disco, lo cual produce una reducción logarítmica de la concentración a medida que aumenta la distancia del disco. La velocidad de difusión del antimicrobiano a través del agar depende de las propiedades de difusión y solubilidad del fármaco en el agar y del peso molecular del compuesto antimicrobiano. Las moléculas más grandes se difundirán a un ritmo más lento que los compuestos de menor peso molecular.

Mediante la inoculación de la placa de agar con el patógeno que se va a analizar previo a colocar los discos en la superficie del agar, se produce un crecimiento simultáneo de las bacterias y la difusión de los compuestos antimicrobianos. El punto en el que se alcanza la masa crítica se demuestra por un círculo muy marginado de crecimiento bacteriano alrededor del disco. La concentración de compuesto antimicrobiano en este margen se denomina concentración crítica y es aproximadamente igual a la concentración mínima inhibitoria (CMI) obtenida en las pruebas de susceptibilidad de dilución de caldo. El tamaño de la zona observada en una prueba de difusión del disco no tiene ningún significado por sí sólo, sin embargo, si este halo se correlaciona con los tamaños de las zonas generadas por estándares o controles, se puede generar una interpretación de comparación entre las muestras evaluadas y las sustancias de referencia o controles.

La actividad antibacteriana del andamio fue evaluada contra *S. aureus* y *P. aeruginosa* mediante una prueba Kirby-Bauer modificada (Catauro et al., 2020). Brevemente, se inoculó al agar nutritivo soluciones celulares de bacterias con una concentración ajustada a  $1 \times 10^6$  CFU ml<sup>-1</sup>. Se depositaron muestras en forma de discos del andamiaje (10 mm de diámetro) en el agar inoculado. Como control positivo, se inocularon discos de papel del mismo tamaño con 100 µl de solución de gentamicina. Como control negativo se emplearon muestras del andamio sin antibiótico esterilizadas mediante exposición a luz UV. Las placas fueron incubadas a 37°C durante 24 h, posteriormente se midieron los halos de inhibición del crecimiento. Los valores reportados son la media  $\pm$  desviación estándar (SD) de las mediciones realizadas en muestras analizadas por triplicado.

## 6.5 Análisis Estadístico

Se realizaron los análisis estadísticos con el programa SPSS (Statistical Package for the Social Sciences la versión 23, SPSS Inc., EE. UU.) mediante comparaciones de medias

por ANOVA. En los resultados en que fuera necesario, se utilizó la prueba post ANOVA Tuckey para la comparación entre los diferentes grupos de tratamiento con importancia asignados a  $p < 0.01$ .

## 7. RESULTADOS

### 7.1 Elaboración de las soluciones poliméricas

El trabajo comenzó con 64 soluciones de PVP:GEL y 20 de AC, sumando un total de 84 soluciones poliméricas. Mediante los criterios mencionados en el apartado 6.1, se descartaron 78 soluciones.

#### 7.1.1 Solubilidad

Durante la elaboración de las distintas soluciones poliméricas, de las 64 soluciones de mezcla entre PVP y GEL, ninguna de las soluciones fue descartada basándose en la solubilidad.

En el caso de las soluciones de AC, se descartaron las soluciones en las que se utilizaba como solvente el ácido acético diluido. Sólo se alcanzó una correcta solubilización mediante el empleo del ácido acético glacial sin diluir (Figura 3). De esta manera es que fueron eliminadas 16 de las 20 soluciones de AC propuestas inicialmente.



**Figura 3.** Solución de Acetato de Celulosa (AC) al 12% (p/v) empleando ácido acético glacial como solvente.

### 7.1.2 Miscibilidad

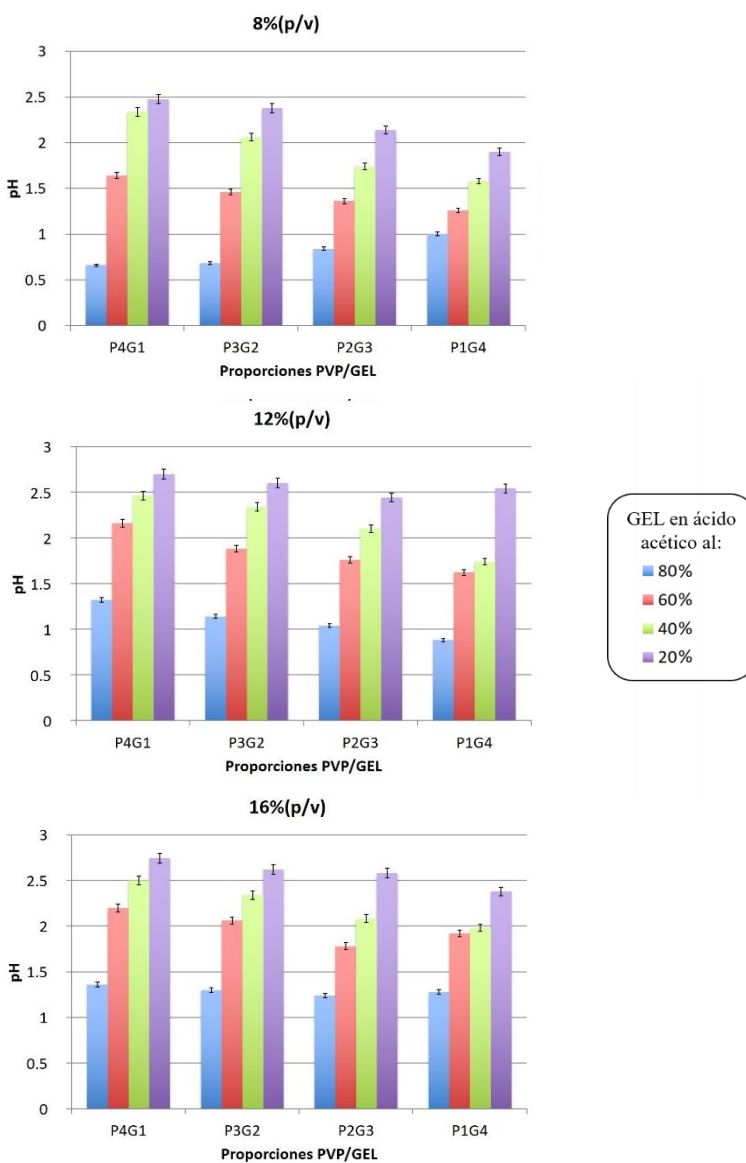
La obtención de las distintas mezclas de las soluciones de PVP y GEL no presentó problema alguno, ya que, sin importar las concentraciones poliméricas específicas de cada solución, la concentración total de polímeros en la mezcla, las proporciones empleadas en la mezcla o incluso la concentración de ácido acético, se lograron obtener mezclas de PVP:GEL homogéneas, no presentándose efecto por la concentración de los polímeros, la proporción de estos en la mezcla, ni el solvente, por lo cual no se descartó ninguna de las 64 soluciones obtenidas de tales mezclas. En la Figura 4 se puede apreciar la apariencia de una mezcla de las soluciones de PVP:GEL.



**Figura 4.** Solución de polivinil pirrolidona y gelatina (PVP:GEL) en proporción 3:2 con una concentración polimérica total de 8% (p/v) completamente homogenizada.

### 7.1.3 pH

En general los valores de pH de las soluciones poliméricas fluctuaron de 0.6 a 2.7 descartándose las soluciones de pH menores a 1.5 para asegurar la estabilidad de la gelatina y la gentamicina.

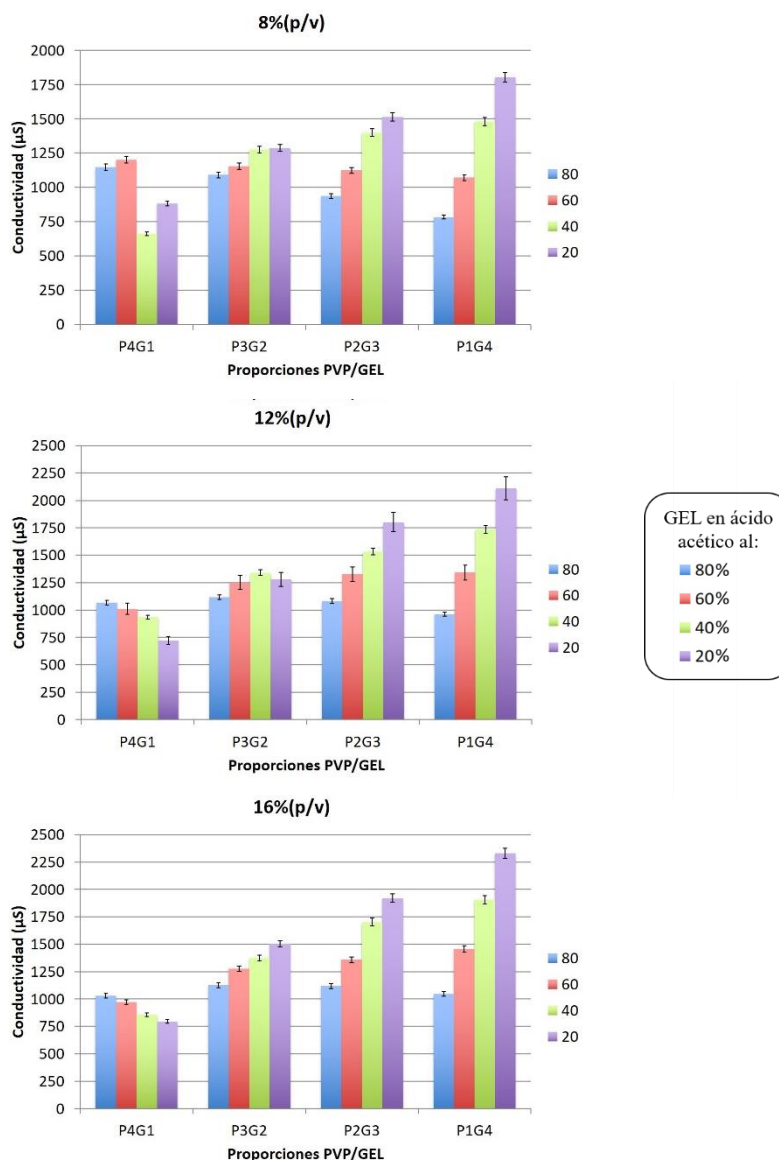


**Figura 5.** Valores de pH de las soluciones de PVP:GEL.

Con los resultados anteriores fueron descartadas las soluciones con ácido acético al 80 y 60% (v/v), restando así sólo 24 soluciones poliméricas, correspondiendo a las que fueron elaboradas con ácido acético al 40 y 20% (v/v).

#### 7.1.4 Conductividad

Los valores de conductividad de las soluciones de PVP:GEL fueron registradas de manera simultánea a la determinación de pH, con resultados desde 685 a 2275  $\mu\text{S}$  (Figura 6).



**Figura 6.** Valores de conductividad de las soluciones de PVP:GEL.



En base a los resultados, se seleccionaron las soluciones que presentaron el valor de conductividad más alto para cada una de las concentraciones poliméricas totales (mostrados en la Figura 6) reduciendo a 3 el número de soluciones.

#### Mezclas de soluciones PVP:GEL

- 8P1G4AcA20:
  - Solución al 8%(p/v) de concentración polimérica total con 1 parte de PVP en etanol y 4 partes de GEL en ácido acético al 20%(v/).
- 12P1G4AcA20:
  - Solución al 12%(p/v) de concentración polimérica total con 1 parte de PVP en etanol y 4 partes de GEL en ácido acético al 20%(v/).
- 16P1G4AcA20:
  - Solución al 16%(p/v) de concentración polimérica total con 1 parte de PVP en etanol y 4 partes de GEL en ácido acético al 20%(v/).

Con relación a las soluciones de AC restantes hasta este punto, se mantuvieron las 3 para continuar con su procesamiento por electrohilado.

#### Soluciones de AC

- 8ACAcAG:
  - Solución al 8%(p/v) de concentración polimérica total de AC en ácido acético glacial.
- 12ACAcAG:
  - Solución al 12%(p/v) de concentración polimérica total de AC en ácido acético glacial.
- 16ACAcAG:
  - Solución al 16%(p/v) de concentración polimérica total de AC en ácido acético glacial.

A partir de estas 6 soluciones se comenzaron a realizar las pruebas para su procesamiento mediante electrohilado.

De esta manera se realizó una reducción de soluciones de 84 a 6, siendo estas:

## **7.2 Proceso de electrohilado**

### *7.2.1 Parámetros del proceso de electrohilado*

Entre los parámetros con mayor influencia en el proceso de electrohilado, se encuentran el flujo de alimentación, diferencia de potencial y distancia desde el inyector al colector. Estos parámetros suelen impactar en gran medida sobre la formación y morfología de las fibras obtenidas. Por tal motivo es que los valores de tales parámetros fueron variados para el procesamiento de las soluciones seleccionadas previamente.

De acuerdo con lo mencionado en el apartado 6.2.1, los valores de los parámetros se variaron dentro de los siguientes rangos:

- Voltaje: 10 a 30 kV
- Flujo: 0.1 a 5.0 ml/h
- Distancia: 10 a 30 cm

Inicialmente se probó el voltaje con el cual cada solución pudiese formar o mantener de manera estable el cono de Taylor, lo cual puede sugerir una proyección de la solución desde el inyector, en una forma similar a fibras.

De manera similar se evaluó el flujo de alimentación de la solución al inyector del equipo, buscando tener un balance entre este parámetro y el mencionado antes, ya que generalmente si el voltaje no demanda un consumo adecuado del volumen suministrado, el segundo tiende a acumularse en la punta del inyector impidiendo la formación del cono de Taylor o incluso llegando a ocluir el sistema.

En las Tablas 4 a 9 se muestran las combinaciones de flujo y voltaje probadas con las 6 soluciones elegidas previamente. El objetivo de tal prueba fue encontrar las combinaciones que permitieran la ruptura de la tensión superficial de las soluciones para poder formar el jet de una forma estable, evitando que se interrumpa el cono de Taylor.

**Tabla 4.** Evaluación de formación de cono de Taylor con la solución 8P1G4 combinando flujo de alimentación y voltaje aplicado.

8P1G4 Flujo (ml/h)	Voltaje (kV)										
	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	30
0.1	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	-	-	-	-
0.5	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	-	-	-
1.0	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
1.5	-	-	-	-	-	-	✓	✓	✓	✓	✓
2.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

✓) Formación del cono de Taylor y jet de la solución;

-) ausencia de cono de Taylor

**Tabla 5.** Evaluación de formación de cono de Taylor con la solución 12P1G4 combinando flujo de alimentación y voltaje aplicado.

12P1G4 Flujo (ml/h)	Voltaje (kV)										
	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	30
0.1	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	-	-	-	-
0.5	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	-	-	-
1.0	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
1.5	-	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
2.0	-	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
2.5	-	-	-	-	-	-	-	✓	✓	✓	✓
3.0	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	✓	✓
3.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

✓) Formación del cono de Taylor y jet de la solución;

-) ausencia de cono de Taylor

**Tabla 6.** Evaluación de formación de cono de Taylor con la solución 16P1G4 combinando flujo de alimentación y voltaje aplicado.

16P1G4 Flujo (ml/h)	Voltaje (kV)										
	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	30
0.1	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	-	-
0.5	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	-	-
1.0	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
1.5	-	-	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
2.0	-	-	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
2.5	-	-	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
3.0	-	-	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
3.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

✓) Formación del cono de Taylor y jet de la solución;

-) ausencia de cono de Taylor

**Tabla 7.** Evaluación de formación de cono de Taylor con la solución 8AC combinando flujo de alimentación y voltaje aplicado.

8AC	Voltaje (kV)										
Flujo (ml/h)	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	30
0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.5	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	-	-	-
1.0	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
1.5	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
2.0	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
2.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

✓) Formación del cono de Taylor y jet de la solución;

-) ausencia de cono de Taylor

**Tabla 8.** Evaluación de formación de cono de Taylor con la solución 12AC combinando flujo de alimentación y voltaje aplicado.

12AC	Voltaje (kV)										
Flujo (ml/h)	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	30
0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1.0	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
1.5	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
2.0	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
2.5	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
3.0	-	-	-	-	-	-	-	✓	✓	✓	✓
3.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

✓) Formación del cono de Taylor y jet de la solución;

-) ausencia de cono de Taylor

**Tabla 9.** Evaluación de formación de cono de Taylor con la solución 16AC combinando flujo de alimentación y voltaje aplicado.

16AC	Voltaje (kV)										
Flujo (ml/h)	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	30
0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1.0	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
1.5	-	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
2.0	-	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
2.5	-	-	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
3.0	-	-	-	-	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
3.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

✓) Formación del cono de Taylor y jet de la solución;

-) ausencia de cono de Taylor

Según los resultados obtenidos, se dejaron como posibles combinaciones a emplear aquellas con valores de flujo de 0.1 0.2 y 0.4 ml/h para las mezclas de PG y de 1.0, 1.5 y 2.0 ml/h para las soluciones de AC. En ambos tipos de soluciones, se continuaron probando voltajes desde 10 a 30 kV.

Una vez que se determinaron combinaciones de los dos parámetros antes mencionados, en los que la formación del cono de Taylor y la estabilidad del jet se mantuviesen estables, se procedió a variar la distancia entre el inyector y el colector. El resultado para considerar como adecuada una distancia fue la deposición de material polimérico. Como segundo



resultado se tomó que la distancia permitiese la evaporación del solvente utilizado, dando lugar a la ausencia de rastros del solvente en el colector.

En las Tablas 10 a 15 se presentan los resultados de la variación de la distancia entre el inyector y el colector para el procesamiento de las soluciones.

**Tabla 10.** Deposición de solución 8P1G4 en colector a diferentes distancias del inyector en combinación con los flujos y voltajes antes evaluados.

<b>8P1G4</b>		Voltaje (kV)											Flujo (ml/h)
Distancia (cm)		10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	30	
10	0.1	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	-	-	-	-	0.1
	0.2	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	-	-	-	0.2
	0.4	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	0.4
15	0.1	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	-	-	-	0.1
	0.2	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	-	-	-	0.2
	0.4	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	0.4
20	0.1	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	-	-	-	0.1
	0.2	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	-	-	-	0.2
	0.4	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	0.4
25	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.1
	0.2	-	-	✓	✓	✓	✓	✓	✓	-	-	-	0.2
	0.4	-	-	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	0.4
30	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.1
	0.2	-	-	✓	✓	✓	✓	✓	✓	-	-	-	0.2
	0.4	-	-	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	0.4

✓) Colección de material; -) Sin colección de material.

**Tabla 11.** Deposición de solución 12P1G4 en colector a diferentes distancias del inyector en combinación con los flujos y voltajes antes evaluados.

12P1G4		Voltaje (kV)											
Distancia (cm)		10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	30	Flujo (ml/h)
10	0.1	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	-	-	-	-	0.1
	0.2	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	-	-	-	0.2
	0.4	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	0.4
15	0.1	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	-	-	-	0.1
	0.2	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	-	-	-	0.2
	0.4	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	0.4
20	0.1	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	-	-	-	0.1
	0.2	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	-	-	-	0.2
	0.4	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	0.4
25	0.1	-	-	✓	✓	✓	-	-	-	-	-	-	0.1
	0.2	-	-	✓	✓	✓	✓	✓	✓	-	-	-	0.2
	0.4	-	-	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	0.4
30	0.1	-	-	✓	✓	-	-	-	-	-	-	-	0.1
	0.2	-	-	✓	✓	✓	✓	-	-	-	-	-	0.2
	0.4	-	-	✓	✓	✓	✓	✓	✓	-	-	-	0.4

✓) Colección de material; -) Sin colección de material.

**Tabla 12.** Deposición de solución 16P1G4 en colector a diferentes distancias del inyector en combinación con los flujos y voltajes antes evaluados.

16P1G4		Voltaje (kV)											
Distancia (cm)		10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	30	Flujo (ml/h)
10	0.1	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	-	-	-	-	0.1
	0.2	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	-	-	-	0.2
	0.4	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	0.4
15	0.1	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	-	-	-	0.1
	0.2	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	-	-	-	0.2
	0.4	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	0.4
20	0.1	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	-	-	-	0.1
	0.2	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	-	-	-	0.2
	0.4	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	0.4
25	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.1
	0.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.2
	0.4	-	-	-	-	-	-	✓	✓	-	-	-	0.4
30	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.1
	0.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.2
	0.4	-	-	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	0.4

✓) Colección de material; -) Sin colección de material.

**Tabla 13.** Deposición de solución 8AC en colector a diferentes distancias del inyector en combinación con los flujos y voltajes antes evaluados.

8AC		Voltaje (kV)										
Distancia (cm)	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	30	Flujo (ml/h)
10	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	1.0
	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	1.5
	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	2.0
15	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	1.0
	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	1.5
	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	2.0
20	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	1.0
	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	1.5
	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	2.0
25	-	-	-	-	-	✓	✓	✓	✓	✓	✓	1.0
	-	-	-	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	1.5
	-	-	-	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	2.0
30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.0
	-	-	-	-	-	-	-	✓	✓	✓	-	1.5
	-	-	-	-	-	-	✓	✓	✓	✓	✓	2.0

✓) Colección de material; -) Sin colección de material.

**Tabla 14.** Deposición de solución 12AC en colector a diferentes distancias del inyector en combinación con los flujos y voltajes antes evaluados.

12AC		Voltaje (kV)											
Distancia (cm)		10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	30	Flujo (ml/h)
10		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	1.0
		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	1.5
		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	2.0
15		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	1.0
		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	1.5
		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	2.0
20		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	1.0
		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	1.5
		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	2.0
25		-	-	-	-	-	-	✓	✓	✓	-	-	1.0
		-	-	-	-	-	✓	✓	✓	✓	✓	-	1.5
		-	-	-	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	-	2.0
30		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.0
		-	-	-	-	-	-	-	✓	✓	✓	✓	1.5
		-	-	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	2.0

✓) Colección de material; -) Sin colección de material.

**Tabla 15.** Deposición de solución 16AC en colector a diferentes distancias del inyector en combinación con los flujos y voltajes antes evaluados.

16AC		Voltaje (kV)										
Distancia (cm)	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	30	Flujo (ml/h)
10	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	1.0
	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	1.5
	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	2.0
15	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	1.0
	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	1.5
	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	2.0
20	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	1.0
	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	1.5
	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	2.0
25	-	-	-	-	-	✓	✓	✓	✓	✓	✓	1.0
	-	-	-	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	1.5
	-	-	✓	✓	✓	✓	✓	-	-	-	-	2.0
30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.0
	-	-	-	-	-	✓	✓	✓	✓	✓	✓	1.5
	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	2.0

✓) Colección de material; -) Sin colección de material.

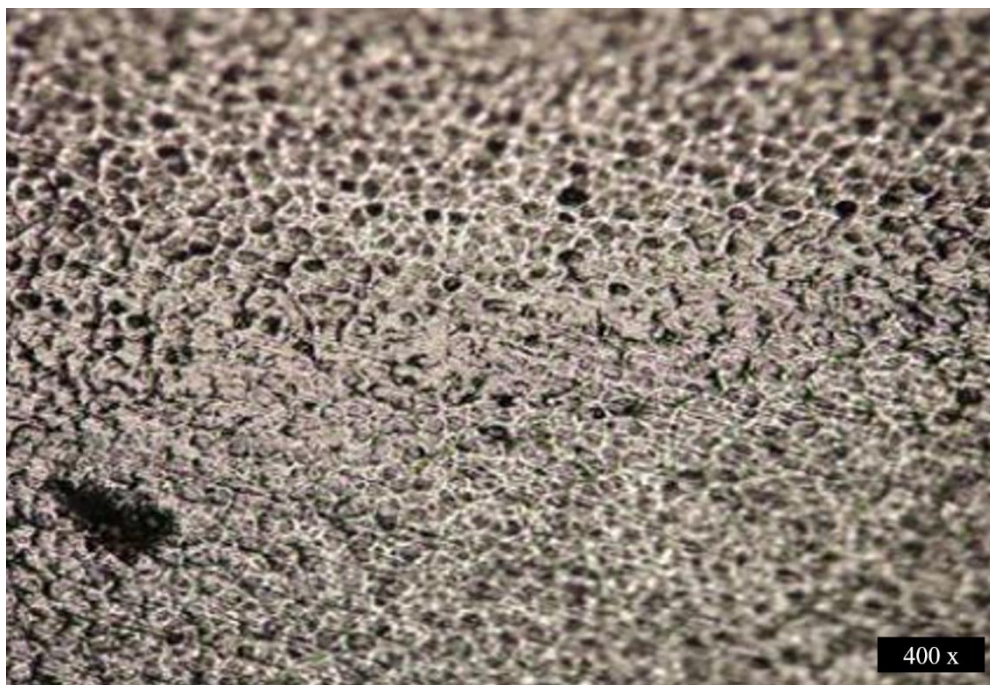
En los casos en que hubo deposición de material en el colector, se realizaron observaciones mediante microscopía óptica para comenzar a apreciar la morfología de las estructuras formadas durante el procesamiento por electrohilado.

## 7.3 Caracterización del Material

### 7.3.1 Microscopía óptica

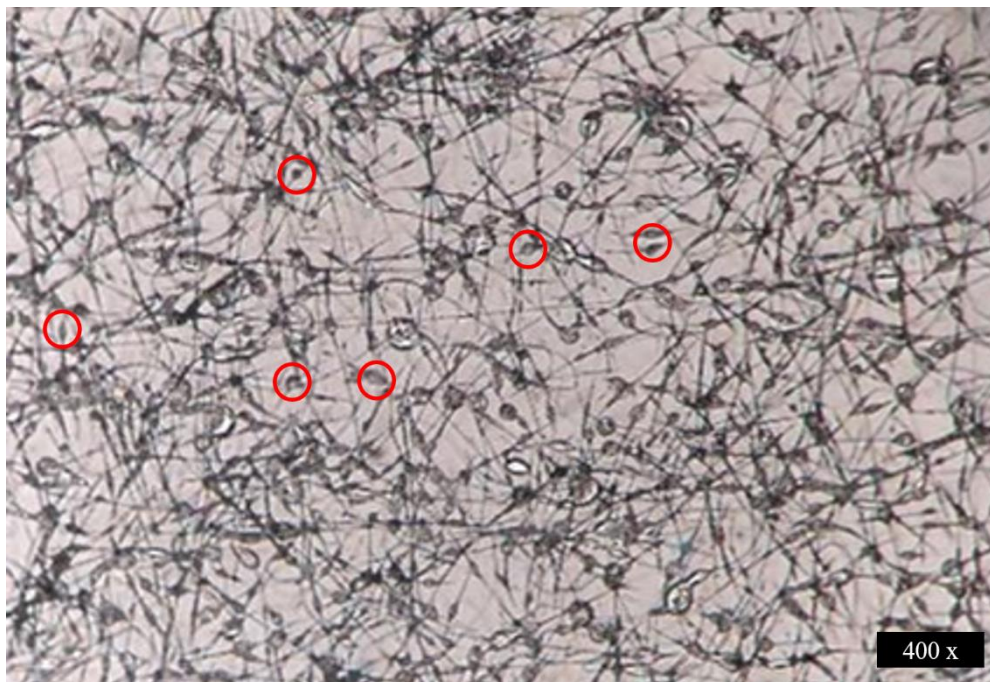
Implementación de Microscopía Óptica como método de evaluación rápido para discriminar resultados con relación a la formación de fibras con características deseadas.

Teniendo resultados sobre las combinaciones de los parámetros que pudiesen resultar en la deposición de material polimérico en el colector, se procedió a emplear la observación mediante microscopía óptica de las formaciones poliméricas que estuviesen generándose con las distintas soluciones procesadas mediante distintas combinaciones de los parámetros. En esta etapa se fueron descartando las combinaciones de parámetros que presentaron remanentes de solventes, morfología diferente a fibras, y/o número elevado de deformaciones en las fibras. En la Figura 7 se puede observar la presencia de solvente en el colector, lo cual indica que no hubo una completa evaporación del solvente durante el proceso de electrohilado bajo las condiciones probadas.



**Figura 7.** Micrografía del material depositado en el colector de la solución de 8AC con un voltaje de 12 kV, un flujo de 1.5 ml/h, a 10 cm de distancia entre el inyector y el colector. Se observa la presencia de solvente que no fue evaporado durante el proceso.

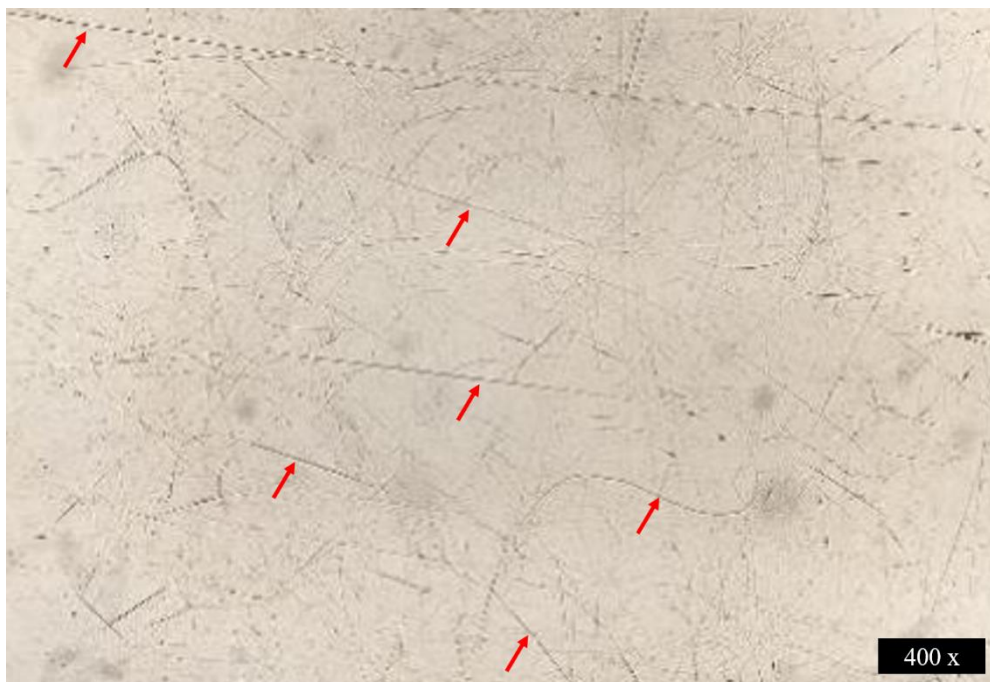
Los resultados que presentaron una gran cantidad de deformaciones o “perlas” en las fibras generadas, fueron descartados de igual manera. En la Figura 8 se muestran este tipo de resultados con deformaciones.



**Figura 8.** Presencia de perlas (●) en las fibras al procesar la solución de 12P1G4 con un voltaje de 30 kV, un flujo de 0.4 ml/h, a 25 cm de distancia entre el inyector y el colector.

Mediante las observaciones de microscopía óptica fue posible el observar resultados que apuntaban a un procesamiento adecuado de las soluciones poliméricas. Como se muestra en la Figura 9, se alcanzaron a apreciar fibras (señaladas con flechas rojas) con un diámetro menor al que pudiese ser caracterizado mediante este tipo de microscopía, una reducida cantidad de deformaciones y sin presencia de solvente, razones por las que estos resultados fueron seleccionados para su posterior caracterización morfológica mediante SEM.





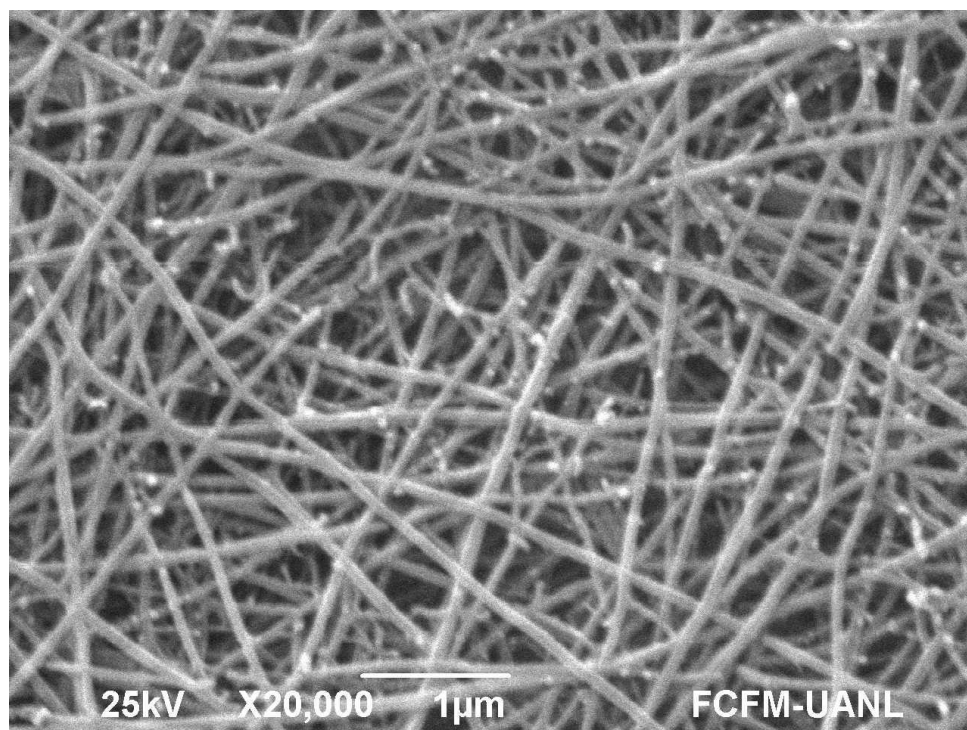
**Figura 9.** Fibras poliméricas obtenidas mediante el procesamiento de la solución 16P1G4 con un voltaje de 20 kV, a 0.2 ml/h de flujo de alimentación y 20 cm de distancia entre inyector y colector.

Basándose en los resultados obtenidos, y buscando las condiciones de procesamiento bajo las cuales hubiese ausencia de solventes en el colector, reducido número de deformaciones y formación de fibras poliméricas, se eligieron a ser caracterizadas las soluciones 16P1G4 (PG de ahora en adelante) y 16AC (AC de ahora en adelante).

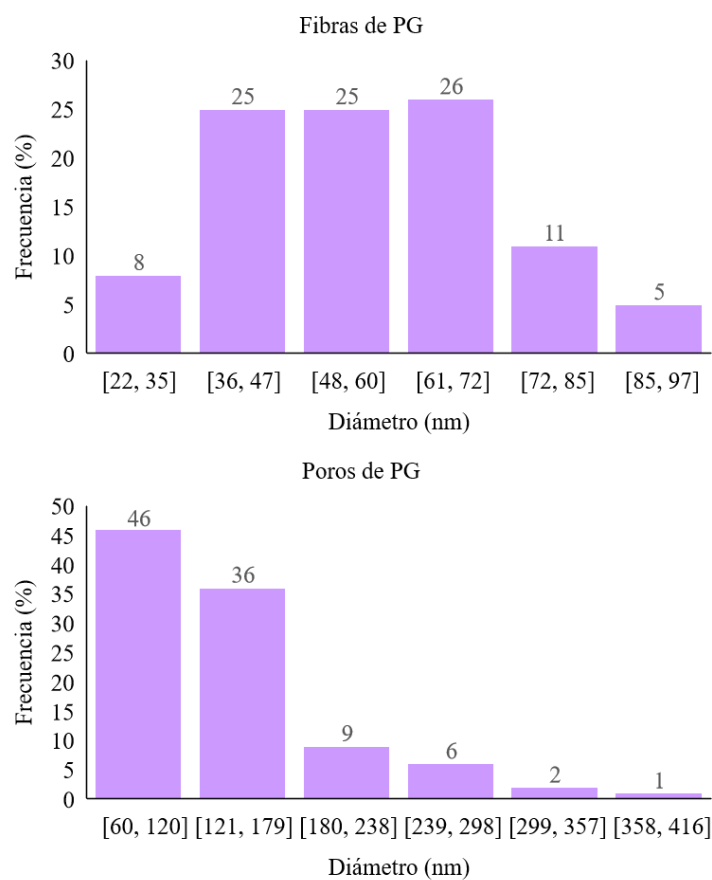
### 7.3.2 SEM

Una vez que se seleccionaron las soluciones y condiciones de procesamiento para las mismas, se procedieron a obtener las muestras necesarias para su observación mediante SEM, siendo así posible el estudiar la morfología de las fibras obtenidas y que posteriormente pasarían a constituir el andamiaje polimérico.

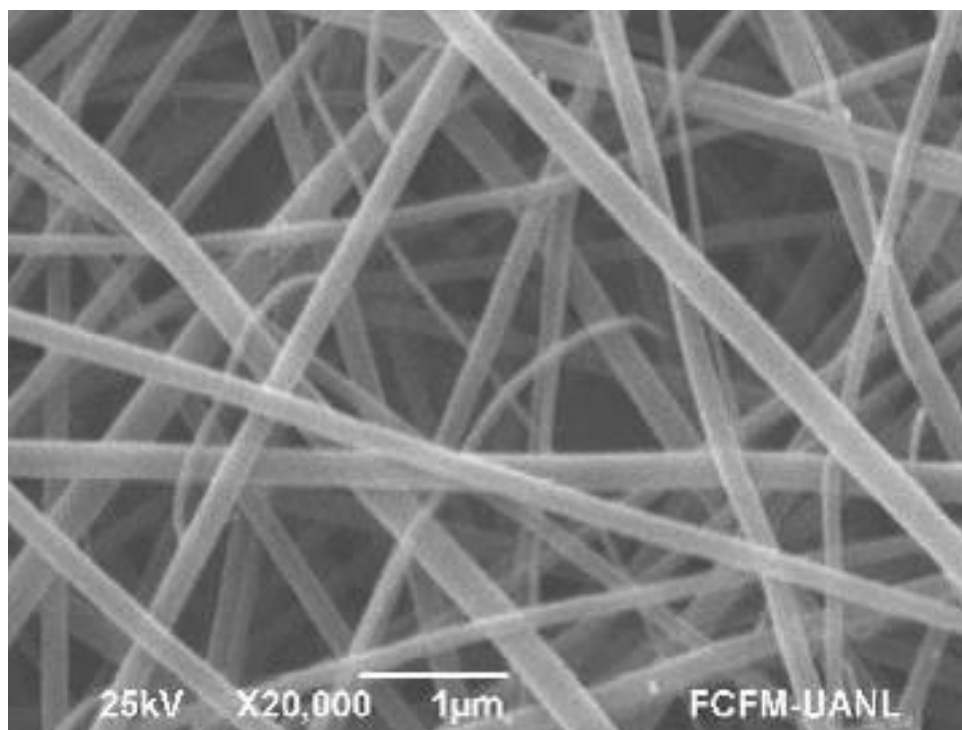
Con las observaciones de las muestras realizadas mediante SEM, se lograron los diámetros promedio de las fibras de ambas soluciones, así como el tamaño promedio de los poros presentes en cada una de las matrices obtenidas, información que se presentan en las Figuras 10 a 13 y la Tabla 16.



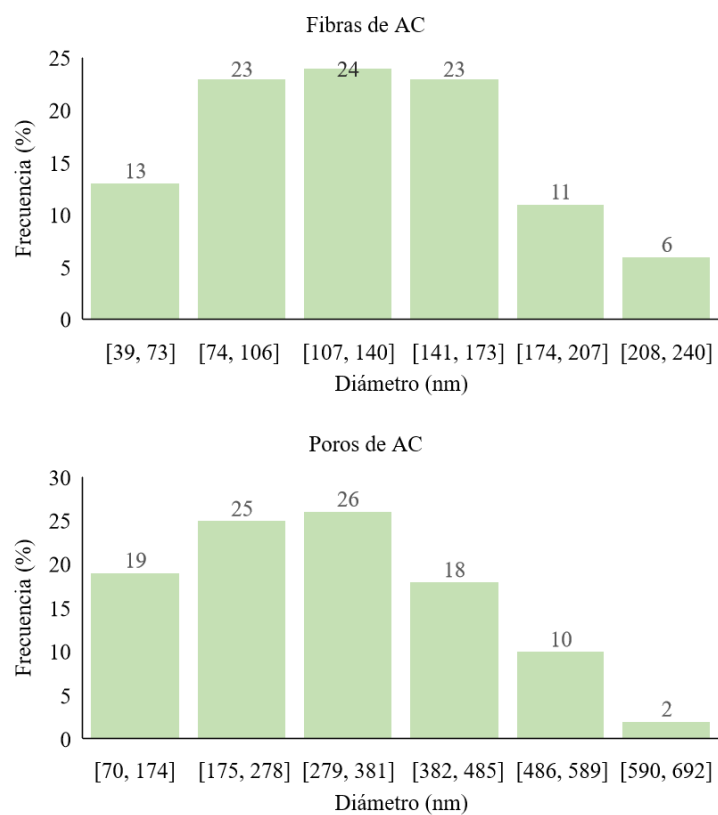
**Figura 10.** SEM de las fibras obtenidas mediante el proceso de electrohilado de la solución PG.



**Figura 11.** Frecuencia del diámetro de las fibras y poros presentes en la matriz de PG.



**Figura 12.** SEM de las fibras obtenidas mediante el proceso de electrohilado de la solución AC.



**Figura 13.** Frecuencia del diámetro de las fibras y poros presentes en la matriz de AC.

**Tabla 16.** Tamaño promedio de fibras y poros

	PG	AC
Fibras	$56 \pm 16^*$	$138 \pm 66$
Poros	$127 \pm 47^*$	$309 \pm 135$

Las unidades de los datos se encuentran representadas en nanómetros (nm). \* Representa diferencia estadística con una  $p=0.01$

Habiendo realizado las observaciones y mediciones de la morfología de las estructuras en las matrices poliméricas, y determinando que tales resultados eran aceptables, se procedió a la adición de gentamicina (gen) a la primera capa polimérica (PG+gen).

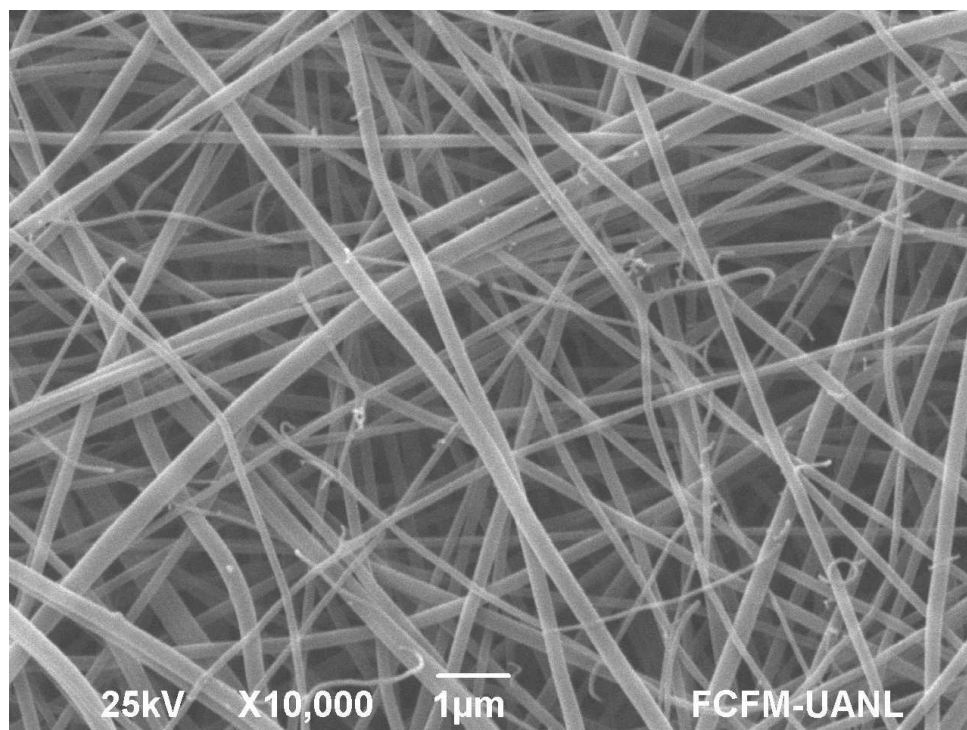
Una vez obtenida con éxito tal capa, se procesó encima de esta la capa de AC como cubierta exterior para de esta forma obtener el andamio bicapa.

### *7.3.3 Adición de la gentamicina*

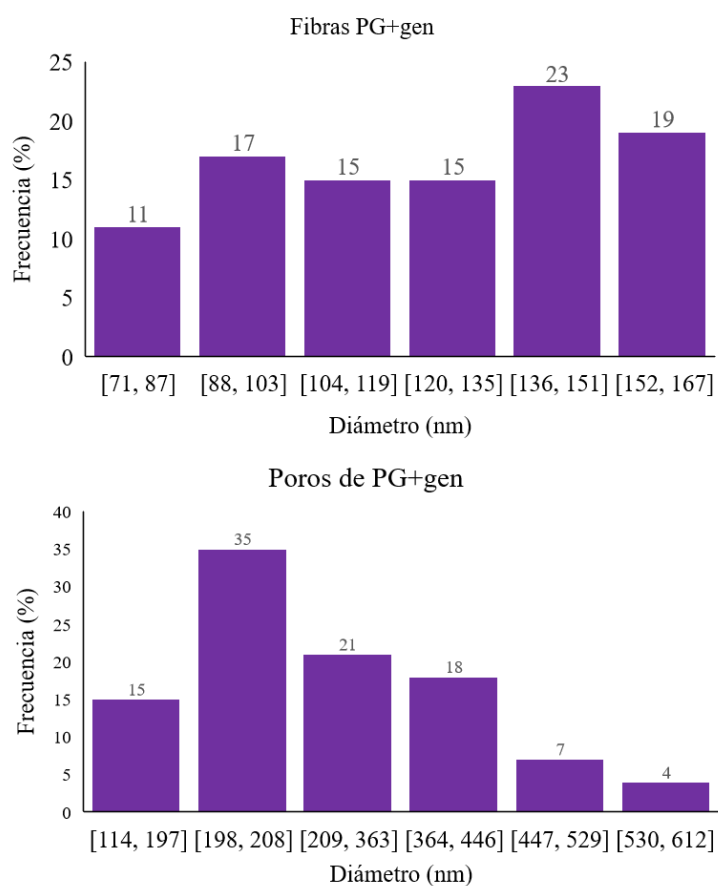
Debido a que las dos primeras concentraciones de gentamicina no presentaron actividad antibacteriana, se llegó a una concentración del 3% (v/v), la cual arrojó resultados prometedores en lo respectivo a actividad antibacteriana.

Una vez generado el andamio de dos capas, se procedió nuevamente a observaciones mediante SEM, con la intención de evaluar los posibles cambios que hubiesen sufrido las fibras con la adición con antibiótico, en el caso de la capa de PG, y las posibles diferencias en las fibras de la capa de AC debido a su procesamiento sobre la primera capa polimérica.

A continuación, se presentan las imágenes de SEM de las capas del andamio polimérico ya finalizadas. Se midieron nuevamente los diámetros y frecuencias de fibras y poros en ambas capas del andamio con la intención de realizar la comparación con los resultados obtenidos al procesar las soluciones de manera individual y en ausencia de antibiótico.

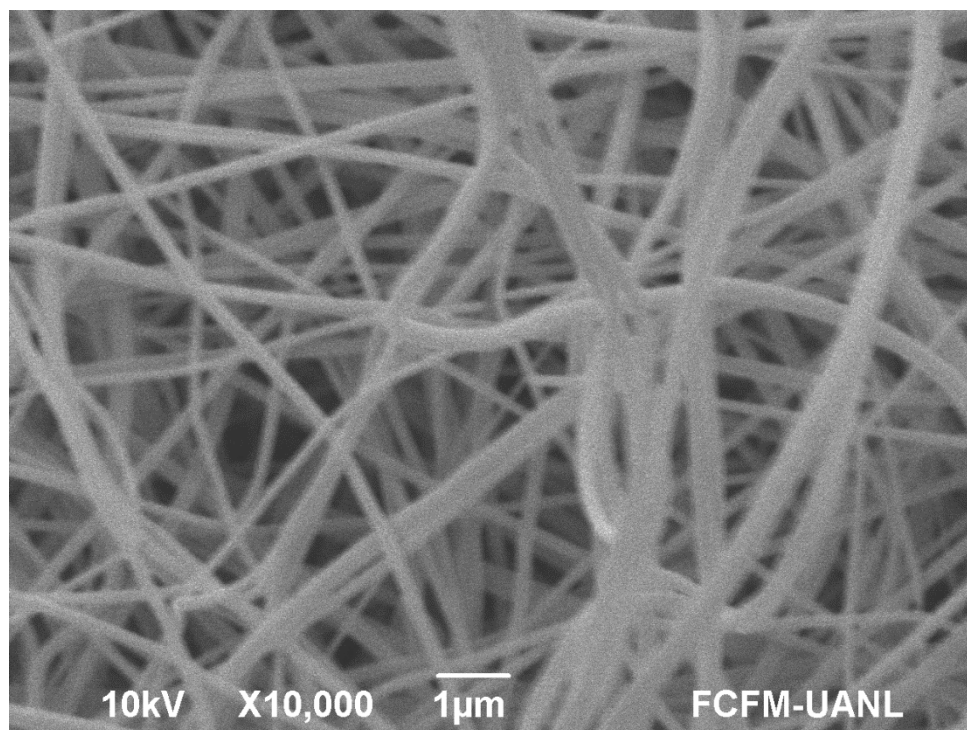


**Figura 14.** SEM de las fibras que conforman la primera capa a base de la solución PG+gen.

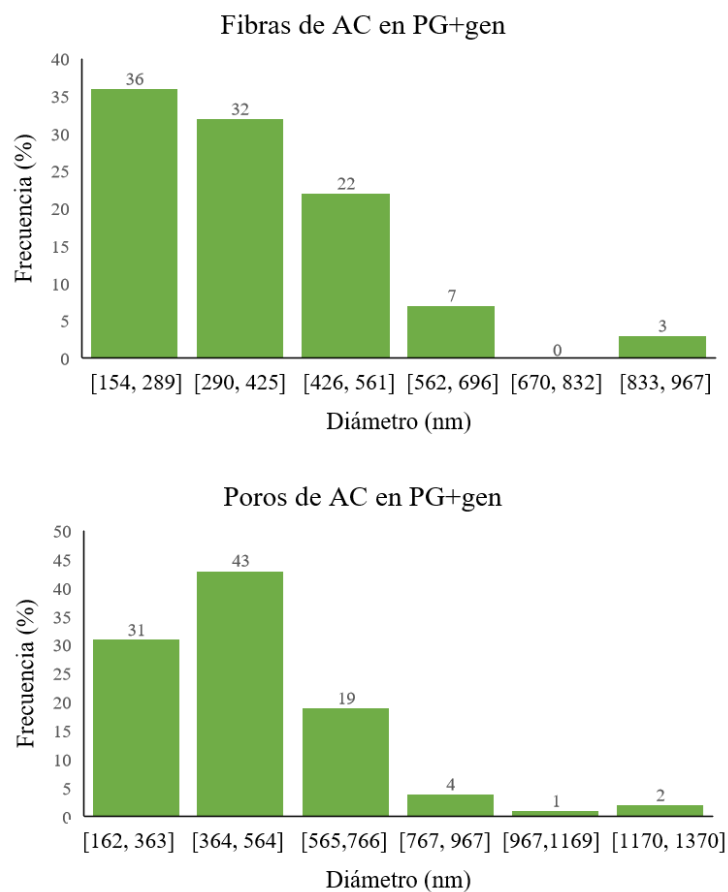


**Figura 15.** Frecuencia de diámetros obtenidos al medir las estructuras presentes en la matriz de PG.





**Figura 16.** SEM de las fibras formadoras de la segunda capa del andamio a partir de la solución AC.



**Figura 17.** Frecuencia de diámetros obtenidos al medir las estructuras presentes en la matriz de PG.

**Tabla 17.** Diámetros promedio de fibras y poros que constituyen el andamio.

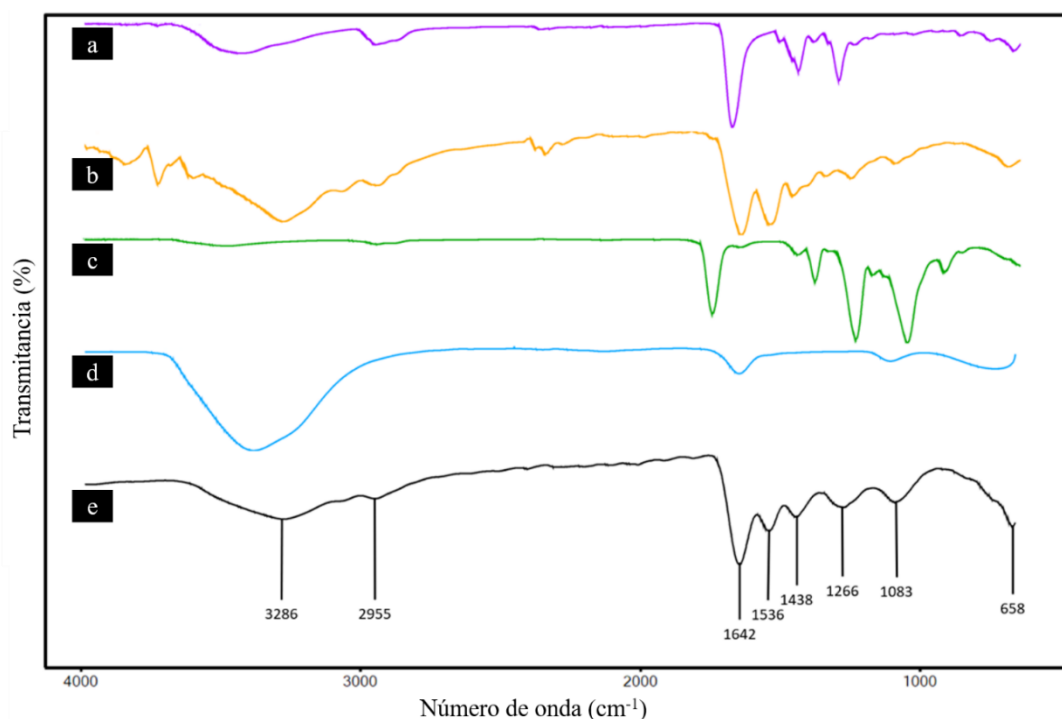
	PG	PG+gen	AC	AC en PG+gen
Fibras	56±16*	124±26	138±66	307±110*
Poros	127±47*	372±146	309±135	472±209*

Las unidades se representan en nanómetros (nm). \* diferencia estadística con  $p = 0.01$ .

Todas las fibras procesadas a partir de la solución respectiva mostraron bordes lisos sin la presencia de perlas. Todas las muestras de cada capa presentan patrones de fibras aleatorios. Los diámetros promedio de las fibras y poros observados se muestran en la Tabla 17

#### 7.3.4 ATR-FTIR

Para poder comprobar la composición química del andamio obtenido se realizaron análisis de espectroscopía infrarroja. Tales resultados se muestran en la Figura 18, donde se pueden apreciar que, las señales características de cada uno de los componentes individuales que conforman el andamio polimérico están presentes en las muestras del material final. De igual manera se enlistan las señales y su correspondencia en la Tabla 18.



**Figura 18.** Espectro de FTIR que muestra las señales de a) PVP, b) GEL, c) AC, d) gen y e) Andamio bicapa.

**Tabla 18.** Posición de las señales detectadas mediante FT-IR presentes en el andamio bicapa y la fuente de origen de cada una de esas señales.

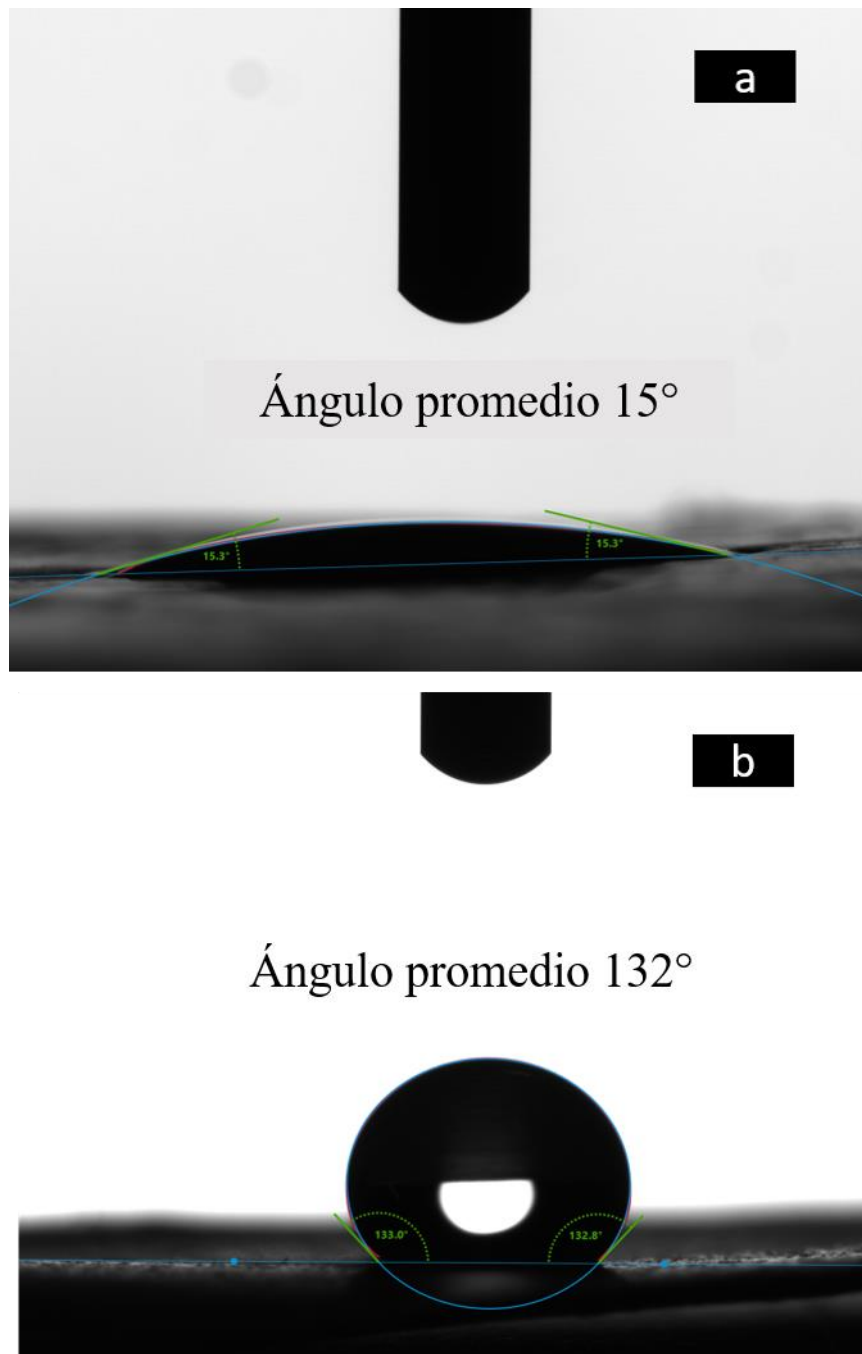
Número de onda (cm <sup>-1</sup> )	Vibración	Grupo Funcional	Fuente
658	Deformación	Csp-H	gen
1083	Estiramiento	C-O	AC
1266	Estiramiento	C-C	AC
1438	Flexión	C-H	PVP
1536	Deformación	N-H	GEL gen
1642	Estiramiento	Amida I	PVP GEL gen
2955	Estiramiento	C-H	AC
3285	Estiramiento	N-H	GEL gen

### 7.3.5 Humectabilidad

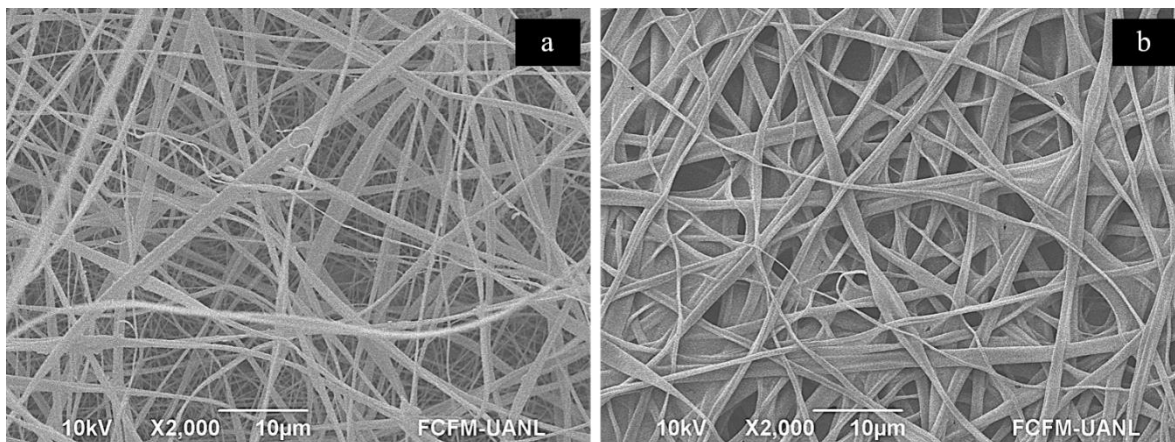
Para evaluar las características de humectabilidad de las capas del andamio polimérico, se realizaron ensayos para determinar el ángulo de contacto de las superficies del material. El ángulo de contacto promedio para cada una se muestra en la Figura 19. Para la capa PG+gen se obtuvo un ángulo promedio de  $15.32 \pm 0.34^\circ$ , mientras que la capa de AC presentó un promedio de  $132.88 \pm 0.12^\circ$ .

Además de esta prueba, se realizaron observaciones mediante SEM para registrar los cambios que se presentasen en las fibras posterior a su humectación. Como se muestra en la Figura 20, las fibras de AC comienzan a presentar indicios de solubilización.





**Figura 19.** Determinación de las características de humectabilidad de las capas del andamio polimérico mediante la determinación del ángulo de contacto de **a)** PG+gen y **b)** AC.

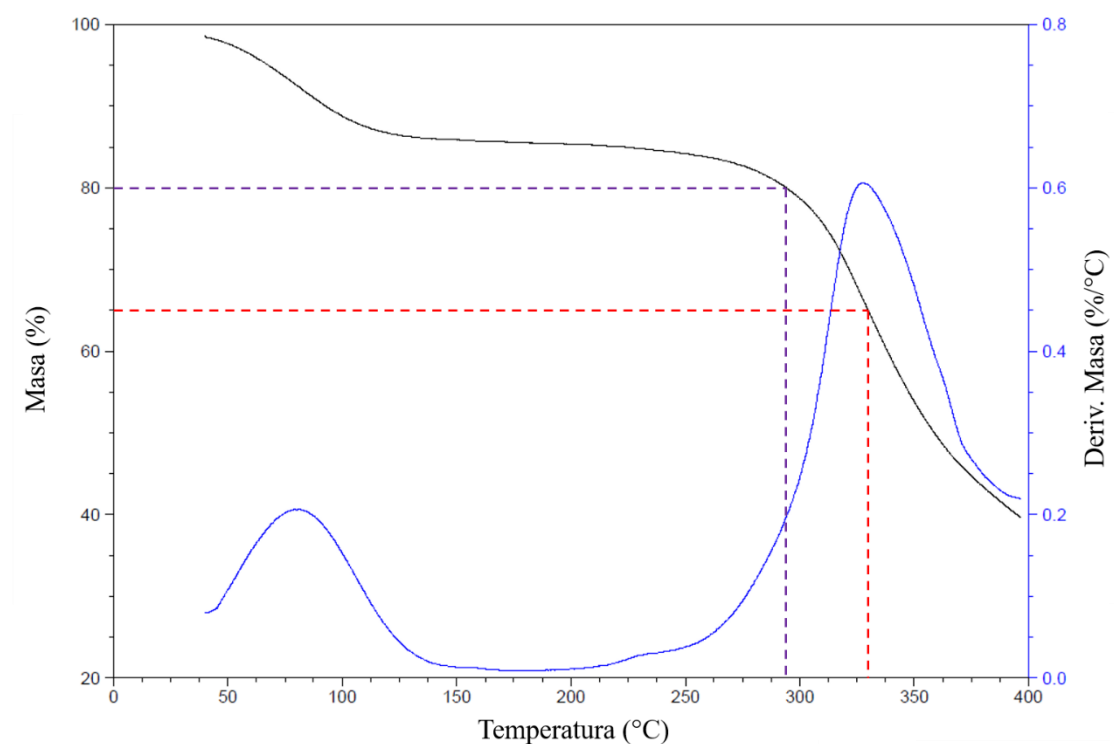


**Figura 20.** SEM que muestra la morfología de las fibras formadoras de la capa de AC del andamio **a)** antes de la prueba de ángulo de contacto y **b)** después de su humectación con buffer de acetatos pH 5.5.

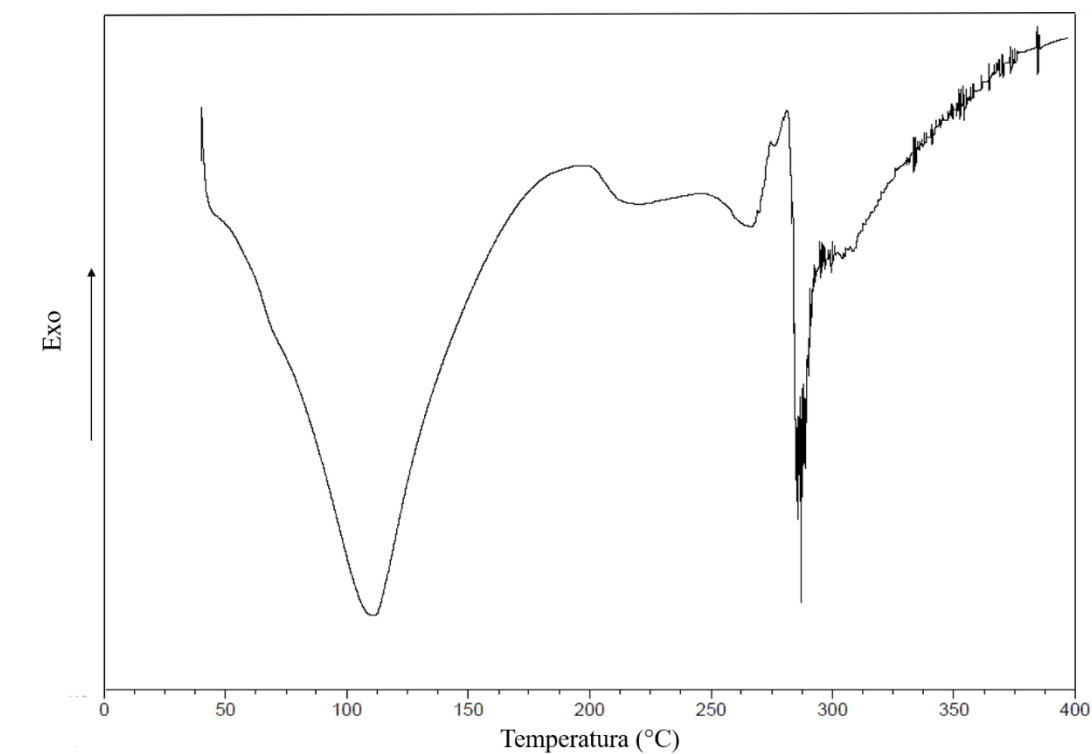
### 7.3.6 Análisis Térmico

En la Figura 21 se presenta el termograma del andamio polimérico adicionado con gentamicina. Mediante este análisis se muestran la  $T_{d20\%}$  del material a los  $294.3 \pm 1.7$  °C, y la  $T_{d50\%}$  en  $359.6 \pm 1.1$  °C. En tal figura se incluye la derivada con respecto a la temperatura para remarcar los cambios de pendiente. Estos se deben a la pérdida de agua en el caso del primer pico, y a la descomposición del material polimérico, en caso del segundo cambio.

Mediante el DSC se pudo observar el comportamiento térmico del material. En la Figura 22 se puede apreciar un comportamiento similar a lo reportado en la literatura. Primero se observa un amplio pico endotérmico alrededor de los 100°C, posterior al cual se presenta la  $T_g$  alrededor de los 195°C para el AC y PVP. En el caso de GEL, los resultados probablemente se vieron enmascarados debido al pico endotérmico inicial. Finalmente se puede considerar una  $T_m$  cercana a los 265°C, muy cercano con los resultados de TGA previamente observados.



**Figura 21.** Termograma del andamio. - - indica la pérdida del primer 20% de la masa de la muestra ( $T_{d20\%}$ ), y - - muestra la temperatura para la pérdida de la mitad ( $T_{d50\%}$ ).



**Figura 22.** DSC del andamio que muestra el comportamiento térmico durante un solo calentamiento con aumento de 10 °C/min en atmósfera de nitrógeno.

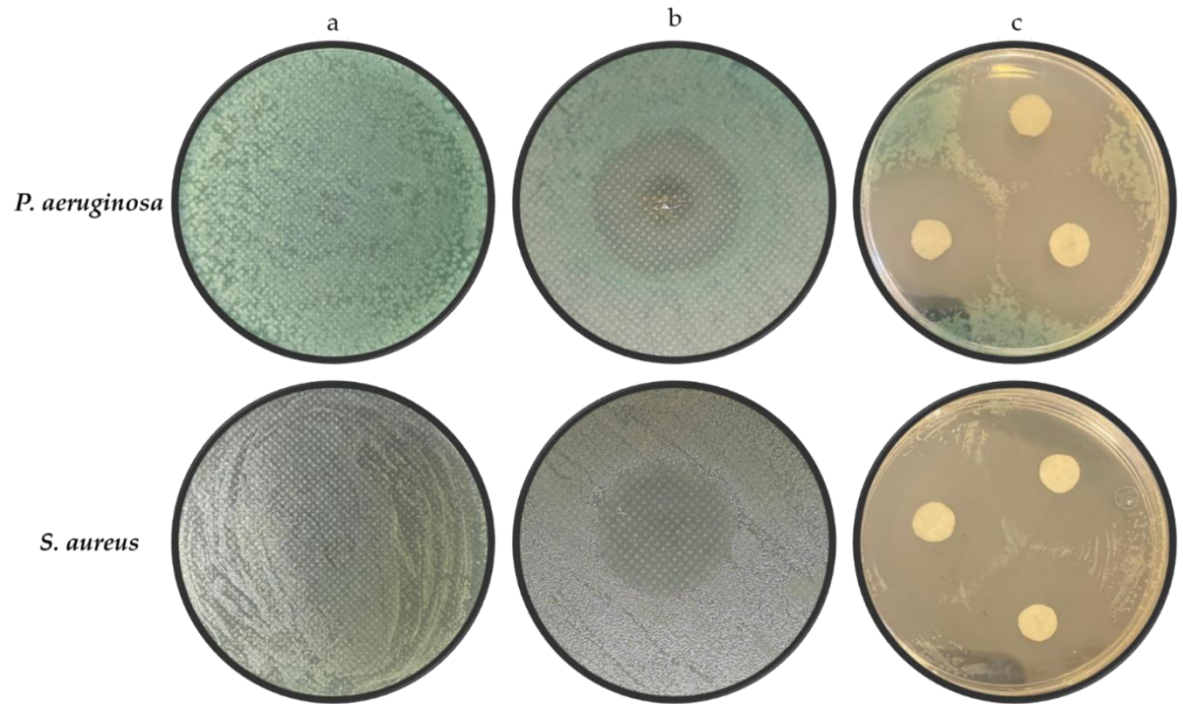
## 7.4 Actividad Biológica

Para la obtención de estos resultados se midieron los halos de inhibición del crecimiento bacteriano de *P. aeruginosa* y *S. aureus*. Los resultados sobre los cultivos microbiológicos se pueden observar en la Figura 23, usando como control negativo una muestra del andamio polimérico sin antibiótico, como tratamiento un disco del material con gentamicina, y como control positivo se empleó un trozo de papel filtro empapado con 100  $\mu$ l de la solución de gentamicina a 160 mg/ml. Todas las muestras con forma de círculos con 1 cm de diámetro fueron esterilizadas por ambos lados mediante exposición a luz UV durante 15 minutos para asegurar su esterilidad. En la Tabla 19 se presentan los valores promedio en milímetros de los diámetros de los halos inhibición del crecimiento de las bacterias.

**Tabla 19.** Actividad antibacteriana obtenida en las pruebas de Kirby-Bauer.

<b>Bacteria</b>	<b>a</b>	<b>b</b>	<b>c</b>
<i>P. aeruginosa</i>	0	24.82 $\pm$ 1.10	25.17 $\pm$ 1.46
<i>S. aureus</i>	0	25.62 $\pm$ 0.86	25.72 $\pm$ 0.99

Halos de inhibición del crecimiento después de incubar las bacterias en presencia de: **a)** control negativo, **b)** muestra del andamio bicapa y **c)** control positivo. Todas las mediciones se encuentran en milímetros.



**Figura 23.** Halos de inhibición del crecimiento en cultivos bacterianos **a)** control negativo usando andamio bicapa sin gentamicina, **b)** tratamiento con andamio polimérico adicionado con gentamicina, **c)** control negativo de disco de papel filtro con gentamicina.

## 8. DISCUSIÓN

Para el desarrollo de biomateriales, es importante considerar el empleo de solventes que puedan generar o incrementar la probabilidad de un efecto citotóxico por lo que es importante utilizar bajas o nulas concentraciones de solventes que puedan tener este efecto. Diferentes trabajos han reportado el uso de soluciones de ácido acético como solvente polimérico en concentraciones menores a las empleadas en este trabajo (Nugraheni et al., 2016), sin embargo también se ha reportado el uso de concentraciones mayores de este ácido suave para la elaboración de materiales poliméricos (Gautam et al., 2014; Jalaja et al., 2016). En este trabajo se buscó disminuir la concentración del ácido acético que permitiera obtener las características de procesabilidad de los polímeros utilizados. Sin embargo, aunque se seleccionaron matrices en las que no se observara la presencia de solventes remanentes, es importante determinar de forma analítica su presencia, así como estudios de citotoxicidad del andamio obtenido.

Por otro lado, la solubilidad del acetato de celulosa fue mejor en ácido acético que en acetona, por lo que se eligió el primero para su completa solubilización. La baja solubilidad del acetato de celulosa en agua coincide con lo reportado por otros autores lo cual puede deberse a los grados de sustitución cercanos a 3.0, 1 al exponer el acetato de celulosa porcentajes de agua por encima del 20% (Bao, 2015).

Una de las ventajas de la técnica de electrohilado es la posibilidad de alcanzar una total evaporación de los solventes empleados en la preparación de las soluciones. Este resultado se enmarca como una consecuencia de un procesamiento “ideal” de la solución mediante la técnica, y si bien en muchas ocasiones no hay una total evaporación de los solventes, si las condiciones del proceso son adecuadas, se logra una reducción importante de la presencia de estas sustancias en el material colectado (Duque-Sánchez et al., 2014).

Con relación a las características exhibidas por las soluciones una vez que fueron preparadas, se observó que aquellas con mayor concentración de ácido acético presentaron un menor pH. De una manera similar se observó que, en el caso de las mezclas de PVP y GEL, a mayor proporción de PVP en etanol, se presentaron valores de conductividad más bajos. Por lo anterior se seleccionaron las soluciones con una mayor proporción de GEL, ya que al tener una mayor conductividad estas soluciones reducían las probabilidades de

necesitar aplicar mayor voltaje para romper la tensión superficial y la consecuente formación del cono de Taylor (Zong et al., 2002).

Las soluciones con menor viscosidad tienden a presentar una mayor cantidad de cuentas o perlas (Shenoy et al., 2005), eso se observó en los resultados de la microscopía óptica, en donde las fibras obtenidas de las soluciones de 8 y 12%(p/v) exhibieron más deformaciones de este tipo que las fibras provenientes del procesamiento de las soluciones de 16%(p/v) tanto para el caso de 16%PIG4 como para 16%AC.

Los parámetros del proceso de electrohilado se encuentran relacionados entre sí, y para obtener los resultados deseados es importante el poder encontrar la combinación adecuada entre estos parámetros. Las combinaciones entre flujo de alimentación y voltaje son importantes ya que es mediante la acumulación de cargas en la solución que se da lugar a la ruptura de la tensión superficial de la gota en la punta del inyector, posibilitando la formación del cono de Taylor. El flujo de alimentación debe ser el adecuado para evitar que el proceso se interrumpa por falta de suministro de la solución polimérica, sin embargo, se debe controlar para que el flujo no sea demasiado, llegando así a acumular un volumen excesivo en la punta del inyector y generando una gota lo suficientemente grande como para que el cono de Taylor y el jet se interrumpan igualmente. De manera concreta, a mayor el flujo de alimentación puede significar que se el voltaje aplicado también deba aumentarse. Una vez que se hubiesen determinado las combinaciones con las cuales el cono de Taylor y el jet se mantuvieran estables, se procedió a evaluar la distancia ideal a la cual se obtuvieran los resultados buscados. Nuevamente se tiene una relación entre este parámetro y los dos antes mencionados ya que es durante esta distancia que el estiramiento de las fibras tendrá lugar a manera de “vuelo”. Durante el tiempo de vuelo en que las fibras recorren la distancia entre el inyector y el colector, se facilita la evaporación de los solventes, así que a mayor distancia mayor será la probabilidad de obtener fibras secas, sin embargo se puede generar un efecto negativo si este espacio se aumenta demasiado, y esto se debe a que si se excede la distancia que las fibras pueden estirarse, no llegaran a ser colectadas, lo cual resulta en la ausencia de material polimérico colectado. Mediante la microscopía óptica se realizaron las observaciones de los resultados preliminares obtenidos mediante las combinaciones seleccionadas de los 3

parámetros principales del proceso de electrohilado. Coincidiendo en gran medida con lo mencionado en literatura sobre los efectos del flujo, el voltaje y la distancia, sobre la morfología de las fibras obtenidas. En comparativa con trabajos reportados por otros autores, los valores de flujo, voltaje y distancia se encuentran dentro de los rangos dentro de los que se han procesado soluciones similares a las de este proyecto (Castillo-Ortega et al., 2011; Charernsriwilaiwat et al., 2016; Costa-Salles et al., 2015; Hongyan et al., 2020; Jiang et al., 2016; Kendouli et al., 2014; Tsekova et al., 2017).

Los mejores resultados se obtuvieron a partir de las soluciones a una concentración de 16% para todos los polímeros ya que se observó una a nula presencia de solventes residuales, una casi inexistente cantidad de deformaciones en las fibras, y fibras con diámetros menores a los 0.5  $\mu\text{m}$ . Con estas dos soluciones seleccionadas (16%P1G4 y 16%AC), se logró electrohilar y retirar las matrices poliméricas del colector. El tiempo requerido fue de 180 minutos para la matriz de PG (polivinil pirrolidona y gelatina) y de 40 minutos para la de AC.

El diámetro observado de las fibras obtenidas en las capas de PG y AC arrojaron valores promedio de  $56\pm 16$  y  $138\pm 66$  nm, los cuales fueron menores a los reportados en trabajos con condiciones similares (An et al., 2010; Costa-Salles et al., 2015; Kendouli et al., 2014; Li et al., 2016), sin embargo, estos valores se incrementaron al adicionar la gentamicina. Esta acción coincide con lo reportado en literatura (Reneker and Yarin, 2008). por lo que para minimizar este incremento por la adición del fármaco, se modificaron los parámetros del procesamiento de la nueva solución (PG+gen) para buscar obtener fibras con un diámetro similar al que mostraron aquellas elaboradas en ausencia de la gentamicina. Aún y cuando se realizaron cambios mínimos en los valores del voltaje aplicado y la distancia entre el inyector y el colector, no se logró disminuir el diámetro de las fibras cuyos valores terminaron promediando  $124\pm 26$  nm, valores por debajo de lo reportado por otros autores (Estrada-Villegas et al., 2019; Khalili et al., 2016; Tsekova et al., 2017).

Algo similar ocurrió al analizar el diámetro de los poros presentes en las capas del andamio, los cuales mostraron un aumento al igual que se presentó en las fibras. Sin embargo, el promedio de los diámetros de los poros presentes en la capa externa de AC sigue siendo menor que el tamaño promedio de las células bacterianas (Cervantes-García



et al., 2014) de los principales microorganismos que se reportan como colonizadores de heridas por quemaduras en la piel, sugiriendo que la capa de AC puede llegar a fungir como una especie de barrera física que prevenga la colonización bacteriana al emplearse el andamio como un recubrimiento para este tipo de heridas.

El análisis de ATR-FTIR del andamio mostró la mayoría de las señales características correspondientes a los componentes del material. Debido a la presencia de PVP se presentó el pico en  $1438\text{ cm}^{-1}$ , el cual corresponde a una flexión de C-H (Fan et al., 2012) y una señal en  $1642\text{ cm}^{-1}$  que corresponde al estiramiento de C=C de la amida I, grupo que se reporta como característico de este polímero (Bonelli et al., 2019). Considerando el AC, es importante mencionar que la señal ubicada en  $900\text{ cm}^{-1}$  asignada al estiramiento de C-O-C en el enlace  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4)-glicosídico, se describe como una banda de absorción "amorfa"; presente y aumentando en intensidad en muestras amorfas; se pudo observar que en el caso del andamio tal señal desapareció, lo cual pudiese sugerir que la configuración amorfa del AC en el material se vio reducida (Ciolacu et al., 2011). Las señales en  $1370\text{ cm}^{-1}$ , están relacionado con la distorsión angular de la C-C en el grupo éster-metilo, y en  $1730\text{ cm}^{-1}$  puede asignarse al grupo acetilo en la cadena polimérica (Ibrahim et al., 2005), no fueron detectables en el espectro del andamio. Una vez más, la presencia de celulosa amorfa puede ser confirmada por el desplazamiento de la banda de  $900\text{ cm}^{-1}$  (Ciolacu et al., 2011), correspondiente a la vibración de estiramiento C-H, a valores de número de onda más altos y por la fuerte disminución de la intensidad de esta banda. En relación con esta banda, en el espectro obtenido durante este estudio, la banda se desplaza a  $2955\text{ cm}^{-1}$ , lo que podría significar que la presencia de AC amorfo en las fibras parece ser mínima.

La gelatina de cerdo típica presenta tres regiones importantes, y en el material obtenido en este trabajo pudieron ser observadas. La primera es la banda a  $1536\text{ cm}^{-1}$  que es causada por la deformación de los enlaces N-H en la amida II. La segunda región es la banda a  $1642\text{ cm}^{-1}$  que es la misma que la de PVP. Finalmente la banda en  $3286\text{ cm}^{-1}$  que corresponde al modo de estiramiento del N-H de los grupos de amida enlazados con hidrógeno (Chakrabarty and Teramoto, 2018; Hashim et al., 2010).

Por último, la presencia de gentamicina se confirmó con las siguientes señales, la banda en  $658\text{ cm}^{-1}$  la cual es importante debido a que se marca como señal para la determinación de este compuesto. De igual manera se observaron dos bandas más en  $1536$  y  $1642\text{ cm}^{-1}$  relacionadas con las aminas aromáticas primarias (Mosselhy et al., 2016). Finalmente, una señal reportada en la región alrededor de  $3286\text{ cm}^{-1}$  siendo característica para los estiramientos de los grupos amino N-H del antibiótico (He et al., 2018).

Es apreciable mediante el espectro de FTIR que la presencia de grupos amino es considerable en el andamio polimérico. Tal hecho es relevante debido a que la presencia de este tipo de grupos funcionales mejoran considerablemente las capacidades de biocompatibilidad de los andamios, influyendo en características como la humectabilidad del material, una mejor capacidad para la adsorción de proteínas, e incluso el comportamiento celular (Klimek and Ginalska, 2020a). Este tipo de grupos funcionales van de la mano con la presencia de PVP y GEL en el andamio, ya que acorde a lo referido en literatura, la presencia de las secuencias RGD presentes en GEL generan puntos de anclaje tanto para las integrinas  $\alpha$  y  $\beta$ , con lo cual se beneficia la adhesión y proliferación de distintos tipos de células (Hosoyama et al., 2019), siendo este segundo polímero el que aporta no sólo la mayoría de los grupos amino del material, sino también este tipo de secuencias pro-adhesivas. En suma, la presencia de las secuencias RGD y los grupos amino podrían ayudar a aumentar las capacidades de favorecer la adhesión celular y la proliferación, lo cual puede traducirse como un probable incremento en la capacidad de promover la regeneración de algunos tejidos (Kim et al., 2020)

En cuanto a la humectabilidad de las capas del material, los resultados para la capa PG+gen coincidieron en gran medida con las características conocidas de los polímeros, (Aldana and Abraham, 2017). Al observar los valores de ángulo de contacto de PG+gen, se puede considerar que tal capa tiene un comportamiento de naturaleza hidrofílica, permitiendo con cierta facilidad el ser mojado por el buffer de acetatos.

Por el contrario, el resultado obtenido para la capa AC mostró un comportamiento hidrofóbico, característica esperada, aunque los valores fueron mayores a lo reportado (Grundke et al., 2015).

Considerando el grado de hidrofiliidad demostrado por la capa PG+gen, se sugiere que las propiedades del andamio pudiesen ayudar en la migración y diferenciación celular (Zhang et al., 2012), esto teniendo en cuenta el valor de  $\theta$ , resultado que concuerda con reportes previos que hipotetizan en base a resultados experimentales la relación entre el grado de hidrofiliidad, que al verse incrementado aumenta el grado de biocompatibilidad (Prado-Prone et al., 2020). Con lo antes mencionado, se refuerza la conjetura de que el material desarrollado exhibe potencial para su aplicación como un recubrimiento para heridas, estableciendo un contacto directo con el tejido dañado por parte de la capa PG+gen, y colocando una barrera física en la parte exterior de la herida mediante la presencia de la capa de AC, reduciendo así las probabilidades de colonización por parte de microorganismos (Li et al., 2018).

Los resultados obtenidos mediante la caracterización térmica del material muestran un comportamiento un tanto diferente al descrito previamente por otros autores. LaFountaine y colaboradores (2016) reportaron temperaturas de degradación para el PVP alrededor de los 175°C, y de igual forma se han reportado degradaciones térmicas del AC rondando los 225°C (Tsekova et al., 2017), no obstante, las muestras del andamio bicapa solo habían perdido un 20% de su masa al llegar a una temperatura 100°C por encima de lo mencionado en otros trabajos. Este efecto pudiese ser atribuido a las probables interacciones entre los polímeros que constituyen el material, sobre todo si se considera la presencia de GEL, cuya presencia estuviese elevando la estabilidad térmica en general del material. Este polímero presenta tres etapas térmicas en su degradación, la primera se reporta alrededor de los 200°C, en la que se pierde poco más del 10% de la masa (Correia et al., 2013), hecho que puede verse reflejado en la Figura X. De manera muy similar ocurre con la segunda etapa de degradación de GEL, la cual tiene lugar entre los 200 y 400°C (Correia et al., 2013; Gautam et al., 2014; Jalaja and James, 2015), concordando con lo mostrado en este estudio.

El análisis de DSC se realizó en sólo un calentamiento ya que, si bien se buscaban analizar las características térmicas del material y sus componentes, se procuró que el análisis fuera representativo del material con la morfología de las fibras sin modificar, razón por la cual no se aplicó un segundo calentamiento. En los resultados obtenidos con esta técnica, se

observó un pico endotérmico entre los 45 a 110°C, el cual de manera coincidente con la literatura, corresponde a la desorción de agua por parte del andamio (Kendouli et al., 2014) pero también está relacionado con la temperatura de desnaturalización de la gelatina, la cual sufre una transición de hélice a bobina en el rango de 90-110°, temperatura a la cual la triple estructura helicoidal de la gelatina se funde y disocia para formar estructuras enrolladas al azar (Jalaja and James, 2015). Posterior a esto se puede apreciar la temperatura de transición vítrea del material alrededor de los 195°C, valor que coincide con el rango de lo reportado para los polímeros utilizados en la elaboración del andamio (Bonelli et al., 2019; Miyashita et al., 2002; Prado-Prone et al., 2020). Finalmente se puede observar que la temperatura de fusión se encuentra alrededor de los 265°C, dato que a diferencia de la  $T_g$ , se encuentra un tanto por encima de lo reportado en algunos trabajos (Gautam et al., 2014; Jalaja and James, 2015; Tavassoli-Kafrani et al., 2017) lo cual puede deberse precisamente a la morfología que presenta el material, coincidiendo con los resultados observados en el TGA.

Referente a los resultados de actividad antimicrobiana de las pruebas de Kirby-Bauer contra *S. aureus* y *P. aeruginosa* con las muestras del andamio polimérico bicapa, estos fueron similares a los obtenidos con el control positivo (solución de gentamicina). De igual manera, los diámetros de los halos de inhibición de crecimiento en ambos microorganismos son similares a los que se han reportado en estudios cuyas metodologías y materiales son semejantes a lo realizado en este proyecto (Coimbra et al., 2019; Tondaturro et al., 2018), con la diferencia en la concentración de gentamicina manejada en tales reportes. Estos resultados permiten concluir que la estructura permitió una liberación del agente antimicrobiano alcanzando una actividad similar a la del antibiótico libre, sin embargo, hay que realizar estudios sobre esta velocidad de liberación y la posibilidad de controlarla. Cabe mencionar que una ventaja que tendría el andamio bicapa generado es la barrera física por la capa hidrofóbica mientras que la capa hidrofílica pudiese ayudar en la migración y diferenciación celular, estudios que hay que realizar.

## 9. CONCLUSIONES

El comportamiento de los polímeros empleados para la elaboración del andamio en este trabajo fue acorde a los reportes presentados por diversos autores en trabajos previos. La polivinil pirrolidona facilita el procesamiento de la gelatina mediante electrohilado. La presencia del acetato de celulosa previene la pérdida de la integridad estructural ante la humectación de la capa de polivinil pirrolidona y gelatina, mientras que la gelatina aporta estabilidad térmica al material.

Los resultados expuestos en el presente escrito comprueban la factibilidad de obtener un andamiaje polimérico de dos capas, siendo la primera capa una mezcla de PVP y GEL adicionada con gentamicina, y la segunda de AC mediante la técnica de electrohilado.

La actividad antibacteriana del andamio es la misma a la observada al emplear una solución de gentamicina comercial, con lo cual se puede asegurar no solamente que el fármaco fue exitosamente adicionado a las fibras poliméricas mediante el electrohilado, pero también que la liberación de la molécula por parte del andamio permite que el material obtenido pueda ser sugerido como apósito para prevenir el crecimiento bacteriano de *P. aeruginosa* y *S. aureus*.

Considerando las propiedades fisicoquímicas y microbiológicas de este andamiaje, la configuración de este le brinda un potencial de aplicación como apósito para heridas, ya que la capa que estaría en contacto directo con el tejido sería la PG+gen, mientras que la capa AC desempeñaría el papel de barrera física que podría prevenir o limitar la colonización por microorganismos, hasta que el biomaterial se solubilice

## **10. PERSPECTIVAS**

Cabe mencionar que debido a la situación de pandemia generada por el SARS-CoV-2 durante el desarrollo de este estudio, no fue posible realizar algunos experimentos planeados como objetivos del presente trabajo, por lo que se sugieren como perspectivas de este.

### **10.1 Pruebas de liberación del principio activo**

Cuantificación de gentamicina por reacciones colorimétricas con Ninhidrina.

El protocolo de este objetivo ya se dejó estandarizado por lo que se sugiere realizar los ensayos de liberación del fármaco por parte del andamio polimérico

### **10.2 Pruebas en líneas celulares**

De igual manera este objetivo no fue posible realizarlo, se contemplaba realizar pruebas de citotoxicidad, proliferación y migración celular en líneas celulares para asegurar que el material es adecuado para su posible empleo como apósito para heridas en piel, por lo que se sugiere continuar con la realización de estos.

## 11. BIBLIOGRAFÍA

- Abramoff, M.D., Magalhães, P.J., Ram, S.J., 2004. Biophotonics international. Biophotonics Int. 11, 36–42.
- Agarwal, S., Greiner, A., Wendorff, J.H., 2013. Functional materials by electrospinning of polymers. Prog. Polym. Sci. 38, 963–991. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2013.02.001>
- Agarwal, S., Wendorff, J.H., Greiner, A., 2009. Progress in the Field of Electrospinning for Tissue Engineering Applications. Adv. Mater. 21, 3343–3351. <https://doi.org/10.1002/adma.200803092>
- Agarwal, S., Wendorff, J.H., Greiner, A., 2008. Use of electrospinning technique for biomedical applications. Polymer (Guildf). 49, 5603–5621. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2008.09.014>
- Aldana, A.A., Abraham, G.A., 2017. Current advances in electrospun gelatin-based scaffolds for tissue engineering applications. Int. J. Pharm. 523, 441–453. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.09.044>
- Alonge, O., Hyder, A. a, 2014. Reducing the global burden of childhood unintentional injuries. Arch. Dis. Child. 99, 62–69. <https://doi.org/10.1136/archdischild-2013-304177>
- An, K., Liu, H., Guo, S., Kumar, D.N.T., Wang, Q., 2010. Preparation of fish gelatin and fish gelatin/poly(l-lactide) nanofibers by electrospinning. Int. J. Biol. Macromol. 47, 380–388. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2010.06.002>
- Atiyeh, B., Barret, J.P., Dahai, H., Duteille, F., Fowler, A., Enoch, S., Greenfield, E., Magnette, A., Rode, H., Zhao-fan, X., 2014. Best Practice Guidelines: Effective Skin and Wound Management of Non-Complex Burns Best Practice Guidelines: Effective Skin and Wound Management of Non-Complex Burns Best Practice Guidelines: Effective Skin and Wound Management of Non-Complex Burns C Best. Wound Int.
- Bao, C., 2015. Cellulose acetate / plasticizer systems : structure , morphology and dynamics Congyu Bao. Hal 1–197.

- Bayat, M., Zia, M., Haghi, M., Hemmatyar, G., Toghyani, M., 2011. Antibiotic resistance pattern of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burnt patients in Urmia, Iran. *African J. Microbiol. Res.* 5, 996–1000. <https://doi.org/10.5897/AJMR10.790>
- Bhardwaj, N., Kundu, S.C., 2010. Electrospinning: A fascinating fiber fabrication technique. *Biotechnol. Adv.* 28, 325–347. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2010.01.004>
- Bognitzki, M., Frese, T., Steinhart, M., Greiner, A., Wendorff, J.H., Schaper, A., Hellwig, M., 2001. Preparation of fibers with nanoscaled morphologies: electrospinning of polymer blends. *Polym. Eng. Sci.* 41, 982–989. <https://doi.org/10.1002/pen.10799>
- Bonelli, N., Poggi, G., Chelazzi, D., Giorgi, R., Baglioni, P., 2019. Poly(vinyl alcohol)/poly(vinyl pyrrolidone) hydrogels for the cleaning of art. *J. Colloid Interface Sci.* 536, 339–348. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2018.10.025>
- Braghirolli, D.I., Steffens, D., Pranke, P., 2014. Electrospinning for regenerative medicine: a review of the main topics. *Drug Discov. Today* 19, 743–753. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2014.03.024>
- Castillo-Ortega, M.M., Nájera-Luna, a., Rodríguez-Félix, D.E., Encinas, J.C., Rodríguez-Félix, F., Romero, J., Herrera-Franco, P.J., 2011. Preparation, characterization and release of amoxicillin from cellulose acetate and poly(vinyl pyrrolidone) coaxial electrospun fibrous membranes. *Mater. Sci. Eng. C* 31, 1772–1778. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2011.08.009>
- Catauro, M., Scolaro, C., Dal Poggetto, G., Pacifico, S., Visco, A., 2020. Wear Resistant Nanocomposites Based on Biomedical Grade UHMWPE Paraffin Oil and Carbon Nano-Filler: Preliminary Biocompatibility and Antibacterial Activity Investigation. *Polymers (Basel)*. 12, 978. <https://doi.org/10.3390/polym12040978>
- Cervantes-García, E., García-González, R., Salazar-Scettino, P.M., 2014. Características generales del *Staphylococcus aureus*. *Rev. Latinoam. Patol. Clínica y Med. del Lab.* 61, 28–40. <https://doi.org/10.1037/0033-2909.126.1.78>



- Chakrabarty, A., Teramoto, Y., 2018. Recent Advances in Nanocellulose Composites with Polymers : A Guide for Choosing Partners and How to. *Polymers* (Basel). 10, 517. <https://doi.org/10.3390/polym10050517>
- Charernsriwilaiwat, N., Rojanarata, T., Ngawhirunpat, T., Opanasopit, P., 2016. Aligned Electrospun Polyvinyl Pyrrolidone/Poly  $\epsilon$ -Caprolactone Blend Nanofiber Mats for Tissue Engineering. *Int. J. Nanosci.* 15, 1650005. <https://doi.org/10.1142/s0219581x16500058>
- Chuangchote, S., Sagawa, T., Yoshikawa, S., 2009. Electrospinning of Poly(vinyl pyrrolidone): Effects of Solvents on Electrospinnability for the Fabrication of Poly(p-phenylene vinylene) and TiO<sub>2</sub> Nanofibers. *J. Appl. Polym. Sci.* 114, 2777–2791. <https://doi.org/10.1002/app.30637>
- Ciolacu, D., Ciolacu, F., Popa, V.I., 2011. Amorphous Cellulose - Structure and Characterization. *Cellul. Chemistry Technol.* 45, 13–21.
- Coimbra, P., Freitas, J.P., Gonçalves, T., Gil, M.H., Figueiredo, M., 2019. Preparation of gentamicin sulfate eluting fiber mats by emulsion and by suspension electrospinning. *Mater. Sci. Eng. C* 94, 86–93. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.09.019>
- Correia, D.M., Padrão, J., Rodrigues, L.R., Dourado, F., Lanceros-Méndez, S., Sencadas, V., 2013. Thermal and hydrolytic degradation of electrospun fish gelatin membranes. *Polym. Test.* 32, 995–1000. <https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2013.05.004>
- Costa-Salles, T.H., Bertachini-Lombello, C., Akira-D'Ávila, M., 2015. Electrospinning of Gelatin/Poly (Vinyl Pyrrolidone) Blends from Water/Acetic Acid Solutions. *Mater. Res.* 18, 509–518. <https://doi.org/10.1590/1516-1439.310114>
- Duque-Sánchez, L.M., Rodriguez, L., López, M., 2014. Electrospinning : La Era De Las Nanofibras. *Rev. Iberoam. Polímeros* 14, 10–27.
- Estrada-Villegas, G.M., Martínez-Hernández, R.C., Morales, J., Olayo, R., 2019. Incorporation of fluoroquinolone/beta cyclodextrin inclusion complex from polylactic acid electrospun fibers and modeling of the release behavior. *Rev. Mex. Ing. Química* 18, 737–747.

<https://doi.org/10.24275/uam/izt/dcibi/revmexingquim/2019v18n2/estrada>

- Fan, M., Dai, D., Huang, B., 2012. Fourier Transform Infrared Spectroscopy for Natural Fibres. *Fourier Transform - Mater. Anal.* <https://doi.org/10.5772/35482>
- Gautam, S., Chou, C.F., Dinda, A.K., Potdar, P.D., Mishra, N.C., 2014. Fabrication and characterization of PCL/gelatin/chitosan ternary nanofibrous composite scaffold for tissue engineering applications. *J. Mater. Sci.* 49, 1076–1089. <https://doi.org/10.1007/s10853-013-7785-8>
- Grundke, K., Pöschel, K., Synytska, A., Frenzel, R., Drechsler, A., Nitschke, M., Cordeiro, A.L., Uhlmann, P., Welzel, P.B., 2015. Experimental studies of contact angle hysteresis phenomena on polymer surfaces - Toward the understanding and control of wettability for different applications. *Adv. Colloid Interface Sci.* <https://doi.org/10.1016/j.cis.2014.10.012>
- Gutiérrez, M.C., Pérez-Ortega, F., Felizberti, M.I., 2018. Efectos de la presencia de fibras de celulosa y curauá en las propiedades térmicas y mecánicas de eco-compositos de acetato de celulosa. *Rev. Mex. Ing. Química* 17, 533–546.
- Hashim, D.M., Man, Y.B.C., Norakasha, R., Shuhaimi, M., Salmah, Y., Syahariza, Z.A., 2010. Potential use of Fourier transform infrared spectroscopy for differentiation of bovine and porcine gelatins. *Food Chem.* 118, 856–860. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.05.049>
- He, W., Mosselhy, D.A., Zheng, Y., Feng, Q., Li, X., Yang, X., Yue, L., Hannula, S.P., 2018. Effects of silica–gentamicin nanohybrids on osteogenic differentiation of human osteoblast-like SaOS-2 cells. *Int. J. Nanomedicine* 13, 877–893. <https://doi.org/10.2147/IJN.S147849>
- Hongyan, B., Tianyi, F., Binbin, L., Yingchao, H., 2020. In Vitro and In Vivo Comparison Study of Electrospun PLA and PLA/PVA/SA Fiber Membranes for Wound Healing. *Polymers (Basel)*. 12, 839. <https://doi.org/10.3390/polym12040839>
- Hosoyama, K., Lazurko, C., Muñoz, M., Mctiernan, C.D., Alarcon, E.I., 2019. Peptide-Based Functional Biomaterials for Soft-Tissue Repair 7.

<https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00205>

- Hu, X., Liu, S., Zhou, G., Huang, Y., Xie, Z., Jing, X., 2014. Electrospinning of polymeric nanofibers for drug delivery applications. *J. Control. Release* 185, 12–21. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2014.04.018>
- Ibrahim, M., Nada, A., Kamal, D., 2005. Density functional theory and FTIR spectroscopic study of carboxyl group. *Indian J. Pure ...* 43, 911–917.
- Jalaja, K., James, N.R., 2015. Electrospun gelatin nanofibers: A facile cross-linking approach using oxidized sucrose. *Int. J. Biol. Macromol.* 73, 270–278. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.11.018>
- Jalaja, K., Naskar, D., Kundu, S.C., James, N.R., 2016. Potential of electrospun core – shell structured gelatin – chitosan nanofibers for biomedical applications. *Carbohydr. Polym.* 136, 1098–1107. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.10.014>
- Jiang, S., Ma, B.C., Reinholz, J., Li, Q., Wang, J., Zhang, K.A.I., Landfester, K., Crespy, D., 2016. Efficient Nanofibrous Membranes for Antibacterial Wound Dressing and UV Protection. *ACS Appl. Mater. Interfaces* 8, 29915–29922. <https://doi.org/10.1021/acsami.6b09165>
- Kendouli, S., Sobti, N., Bensouissi, A., Avci, A., 2014. Materials Science in Semiconductor Processing Modification of cellulose acetate nanofibers with PVP / Ag addition. *Mater. Sci. Semicond. Process.* 28, 13–19. <https://doi.org/10.1016/j.mssp.2014.03.010>
- Khalili, S., Khorasani, S.N., Saadatkish, N., Khoshakhlagh, K., 2016. Characterization of gelatin/cellulose acetate nanofibrous scaffolds: Prediction and optimization by response surface methodology and artificial neural networks. *Polym. Sci. Ser. a* 58, 399–408. <https://doi.org/10.1134/S0965545X16030093>
- Kim, H.S., Choi, S.H., Kang, M.L., Lee, K.W., Kim, K.N., Sung, H.J., 2020. Synergistic Adhesiveness of Fibronectin with PHSRN Peptide in Gelatin Mixture Promotes the Therapeutic Potential of Human ES-Derived MSCs. *Cell. Mol. Bioeng.* 13, 73–86. <https://doi.org/10.1007/s12195-019-00604-0>

- Klimek, K., Ginalska, G., 2020a. Proteins and Peptides as Important Modifiers of the Polymer Scaffolds for Tissue Engineering Applications—A Review. *Polymers (Basel)*. 12, 844. <https://doi.org/10.3390/polym12040844>
- Klimek, K., Ginalska, G., 2020b. Proteins and Peptides as Important Modifiers of the Polymer Scaffolds for Tissue Engineering Applications—A Review. *Polymers (Basel)*. 12, 844. <https://doi.org/10.3390/polym12040844>
- Knappe, P., Bienert, R., Weidner, S., Thünemann, A.F., 2010. Characterization of poly(N-vinyl-2-pyrrolidone)s with broad size distributions. *Polymer (Guildf)*. 51, 1723–1727. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2010.02.039>
- LaFountaine, J.S., Prasad, L.K., Brough, C., Miller, D.A., McGinity, J.W., Williams, R.O., 2016. Thermal Processing of PVP- and HPMC-Based Amorphous Solid Dispersions. *AAPS PharmSciTech* 17, 120–132. <https://doi.org/10.1208/s12249-015-0417-7>
- Lee, K.H., Kim, H.Y., Khil, M.S., Ra, Y.M., Lee, D.R., 2003. Characterization of nano-structured poly(E-caprolactone) nonwoven mats via electrospinning. *Polymer (Guildf)*. 44, 1287–1294.
- Li, D., Chen, W., Sun, B., Li, H., Wu, T., Ke, Q., Huang, C., El-Hamshary, H., Al-Deyab, S.S., Mo, X., 2016. A comparison of nanoscale and multiscale PCL/gelatin scaffolds prepared by disc-electrospinning. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* 146, 632–641. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2016.07.009>
- Li, J., Hu, Y., He, T., Huang, M., Zhang, X., Yuan, J., Wei, Y., Dong, X., Liu, W., Ko, F., Zhou, W., 2018. Electrospun Sandwich-Structure Composite Membranes for Wound Dressing Scaffolds with High Antioxidant and Antibacterial Activity. *Macromol. Mater. Eng.* 303, 1–13. <https://doi.org/10.1002/mame.201700270>
- Linh, N.T.B., Lee, B.-T., 2012. Electrospinning of polyvinyl alcohol/gelatin nanofiber composites and cross-linking for bone tissue engineering application. *J. Biomater. Appl.* 27, 255–266. <https://doi.org/10.1177/0885328211401932>
- Martins, a., Reis, R.L., Neves, N.M., 2008. Electrospinning: processing technique for

- tissue engineering scaffolding. *Int. Mater. Rev.* 53, 257–274.  
<https://doi.org/10.1179/174328008X353547>
- Miyashita, Y., Suzuki, T., Nishio, Y., 2002. Miscibility of cellulose acetate with vinyl polymers. *Cellulose* 9, 215–223. <https://doi.org/10.1023/A:1021144827845>
- Moctezuma-Paz, E.L., Páez-Franco, I., Jiménez-González, S., Miguel-Jaimes, K.D., Sevilla-Bacilo, J., Barrera-Vázquez, O., Melo-Sánchez, E., Hernández-Gómez, E., Flores-Alamillo, J., Núñez-Luna, V., 2012. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=47325181012>. *Rev. Espec. Médico-Quirúrgicas* 17, 313–324.
- Moctezuma-Paz, L., Páez-Franco, I., Jimenez-González, S., Miguel-Jaimes, K.D., Foncerrada-Ortega, G., González-Contreras, N.A., Sánchez-Flores, A.Y., Albores de la Riva, N.X., Nuñez-Luna, V., 2015. Epidemiología de las quemaduras en México Epidemiology of burns in Mexico. *Rev Esp Méd Quir* 20, 78–82.
- Mogoanu, G.D., Grumezescu, A.M., 2014. Natural and synthetic polymers for wounds and burns dressing. *Int. J. Pharm.* 463, 127–136.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2013.12.015>
- Mosselhy, D.A., Ge, Y., Gasik, M., Nordström, K., Natri, O., Hannula, S.P., 2016. Silica-gentamicin nanohybrids: Synthesis and antimicrobial action. *Materials (Basel)*. 9, 1–16. <https://doi.org/10.3390/ma9030170>
- Nugraheni, A.D., Purnawati, D., M., B.A.P., Chotimah, Kusumaatmaja, A., Triyana, K., 2016. Study of thermal degradation of PVA/Chitosan/Gelatin electrospun nanofibers 150017, 150017. <https://doi.org/10.1063/1.4958590>
- Panzavolta, S., Gioffrè, M., Focarete, M.L., Gualandi, C., Foroni, L., Bigi, A., 2011. Electrospun gelatin nanofibers: Optimization of genipin cross-linking to preserve fiber morphology after exposure to water. *Acta Biomater.* 7, 1702–1709.  
<https://doi.org/10.1016/j.actbio.2010.11.021>
- Park, C.-W., Park, J.-S., Han, S.-Y., Lee, E.-A., Kwon, G.-J., Seo, Y.-H., Gwon, J.-G., Lee, S.-Y., Lee, S.-H., 2020. Preparation and Characteristics of Wet-Spun Filament

- Made of Cellulose Nanofibrils with Different Chemical Compositions. *Polymers* (Basel). 12, 949. <https://doi.org/10.3390/polym12040949>
- Prado-Prone, G., Bazzar, M., Focarete, M.L., García-Macedo, J.A., Perez-Orive, J., Ibarra, C., Velasquillo, C., Silva-Bermudez, P., 2020. Single-step, acid-based fabrication of homogeneous gelatin-polycaprolactone fibrillar scaffolds intended for skin tissue engineering. *Biomed. Mater.* 15. <https://doi.org/10.1088/1748-605X/ab673b>
- Ranganathan, S., Balagangadharan, K., Selvamurugan, N., 2019. Chitosan and gelatin-based electrospun fibers for bone tissue engineering. *Int. J. Biol. Macromol.* 133, 354–364. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.04.115>
- Reneker, D.H., Yarin, A.L., 2008. Electrospinning jets and polymer nanofibers. *Polymer* (Guildf). 49, 2387–2425. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2008.02.002>
- Rogina, A., 2014. Electrospinning process: Versatile preparation method for biodegradable and natural polymers and biocomposite systems applied in tissue engineering and drug delivery. *Appl. Surf. Sci.* 296, 221–230. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2014.01.098>
- Rošic, R., Pelipenko, J., Kocbek, P., Baumgartner, S., Bešter-Rogač, M., Kristl, J., 2012. The role of rheology of polymer solutions in predicting nanofiber formation by electrospinning. *Eur. Polym. J.* 48, 1374–1384. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2012.05.001>
- Shenoy, S.L., Bates, W.D., Frisch, H.L., Wnek, G.E., 2005. Role of chain entanglements on fiber formation during electrospinning of polymer solutions: Good solvent, non-specific polymer-polymer interaction limit. *Polymer* (Guildf). 46, 3372–3384. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2005.03.011>
- Son, W.K., Youk, J.H., Lee, T.S., Park, W.H., 2004. The effects of solution properties and polyelectrolyte on electrospinning of ultrafine poly(ethylene oxide) fibers. *Polymer* (Guildf). 45, 2959–2966. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2004.03.006>
- Sridhar, R., Sundarrajan, S., Vanangamudi, A., Singh, G., Matsuura, T., Ramakrishna, S., 2014. Green processing mediated novel polyelectrolyte nanofibers and their

- antimicrobial evaluation. *Macromol. Mater. Eng.* 299, 283–289.  
<https://doi.org/10.1002/mame.201300141>
- Stepanyan, R., Subbotin, A.V., Cuperus, L., Boonen, P., Dorsch, M., Oosterlinck, F., Bulters, M.J.H., 2016. Nanofiber diameter in electrospinning of polymer solutions: Model and experiment. *Polymer (Guildf)*. 97, 428–439.  
<https://doi.org/10.1016/j.polymer.2016.05.045>
- Sultana, N., Hassan, M.I., Lim, M.M., 2015. Composite Synthetic Scaffolds for Tissue Engineering and Regenerative Medicine. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-09755-8>
- Tavassoli-Kafrani, E., Goli, S.A.H., Fathi, M., 2017. Fabrication and characterization of electrospun gelatin nanofibers crosslinked with oxidized phenolic compounds. *Int. J. Biol. Macromol.* 103, 1062–1068. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.05.152>
- Tekmen, C., Suslu, A., Cocen, U., 2008. Titania nanofibers prepared by electrospinning. *Mater. Lett.* 62, 4470–4472. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2008.08.002>
- Tonda-turo, C., Ruini, F., Ceresa, C., Gentile, P., Varela, P., Ferreira, A.M., Fracchia, L., Ciardelli, G., 2018. Colloids and Surfaces B : Biointerfaces Nanostructured scaffold with biomimetic and antibacterial properties for wound healing produced by ‘ green electrospinning .’ *Colloids Surfaces B Biointerfaces* 172, 233–243.  
<https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2018.08.039>
- Tsekova, P.B., Spasova, M.G., Manolova, N.E., Markova, N.D., Rashkov, I.B., 2017. Electrospun curcumin-loaded cellulose acetate/polyvinylpyrrolidone fibrous materials with complex architecture and antibacterial activity. *Mater. Sci. Eng. C* 73, 206–214. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.12.086>
- Wendorff, J.H., Agarwal, S., Greiner, A., 2012. *Electrospinning Materials, Processing, and Applications*. Wiley-VCH Verlag & Co. KGaA, Weinheim, Germany.
- Yang, Y., Xia, T., Zhi, W., Wei, L., Weng, J., Zhang, C., Li, X., 2011. Promotion of skin regeneration in diabetic rats by electrospun core-sheath fibers loaded with basic fibroblast growth factor. *Biomaterials* 32, 4243–4254.

<https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2011.02.042>

Zhang, X., Gao, X., Jiang, L., Qin, J., 2012. Flexible generation of gradient electrospinning nanofibers using a microfluidic assisted approach. *Langmuir* 28, 10026–10032. <https://doi.org/10.1021/la300821r>

Zong, X., Kim, K., Fang, D., Ran, S., Hsiao, B.S., Chu, B., 2002. Structure and process relationship of electrospun bioabsorbable nanofiber membranes. *Polymer (Guildf)*. 43, 4403–4412. [https://doi.org/10.1016/S0032-3861\(02\)00275-6](https://doi.org/10.1016/S0032-3861(02)00275-6)



## **12. RESUMEN BIOGRÁFICO**

Héctor Daniel López Calderón

Candidato para el grado de  
Doctor en Ciencias con Orientación en Biotecnología

Tesis: MATRIZ POLIMÉRICA ELABORADA POR ELECTROHILADO A BASE DE  
POLIVINILPIRROLIDONA/GELATINA Y SU APLICACIÓN BIOMÉDICA.

Campo de estudio: Biotecnología

Datos personales:

Nacido en Monterrey, Nuevo León el 22 de noviembre de 1988, hijo de Celia Calderón y Héctor López.

Educación:

Egresado de la Universidad Autónoma de Nuevo León, grado obtenido Licenciado en Biotecnología Genómica en 2013. Maestro en Ciencias con orientación en Microbiología en 2016 con mención honorífica.